

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
Праця на правах рукопису

КОСІНОВ ОЛЕКСІЙ СЕРГІЙОВИЧ

УДК 616.314-007.21:616.716.1-018.4-089.843/.844-77:549.753.1-185

ДИСЕРТАЦІЯ

**КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ
НОВОГО ГІДРОКСИАПАТИТ- ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТНОГО
КОМПОЗИТНОГО МАТЕРІАЛУ
ПРИ СУБАНТРАЛЬНІЙ АУГМЕНТАЦІЇ**

221 «Стоматологія»

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

О. С. Косінов

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник – **Міщенко Олег Миколайович**, доктор медичних наук, професор.

Запоріжжя – 2026

АНОТАЦІЯ

Косінов О.С. Клініко-лабораторне обґрунтування використання нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу при субантральній аугментації – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 «Стоматологія» (22 Охорона здоров'я).

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2026.

Робота виконана на клінічній базі «Стоматологія Ексіма» м. Запоріжжя, та Запорізького державного медико-фармацевтичного університету протягом 2021-2026 років.

Метою роботи було наукове обґрунтування використання нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу при субантральній аугментації шляхом дослідження його остеointegraційних властивостей.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що визначені структурні переваги оновленого синтетичного кісткового композиту на основі гідроксилапатиту та трикальційфосфату зі спущеною формулою. Оцінено біосумісність синтетичного кісткового композиту у лабораторному експерименті на культурах клітин. Показано відсутність імуногенності матеріалу шляхом морфологічного дослідження. Уточнені та поглиблені наукові дані щодо лікування хворих на вторинну часткову адентію верхньої щелепи в бічних відділах, яким проведено операцію субантральної аугментації.

Практична значущість одержаних результатів полягає у підвищенні ефективності лікування хворих на вторинну часткову адентію верхньої щелепи в бічних відділах методом субантральної аугментації. Вдосконалено методику терапії із застосуванням синтетичного кісткового композиту на підставі гістологічного дослідження фрагментів кісткового регенерату у віддалені

строки, та доведена ефективність субантральної аугментації цим матеріалом для впровадження його застосування в клінічну практику.

Дане дисертаційне дослідження характеризується методологічною і хронологічною етапністю та поділене на два послідовних етапи: лабораторну та клінічну.

У першому (лабораторному) етапі дослідження проведено оцінку біосумісності кісткового композиту *in vitro*. Дослідження склалось з аналізу на цитотоксичність, а також визначення активності культур остеобластів, фібробластів на поверхні кісткового композиту *in vitro*. На основі порівняння динаміки проліферації остеобластів та фібробластів на поверхні матеріалу була проведена оцінка здатності до адгезії зазначених клітин.

У другому (клінічному) етапі була вивчена клінічна ефективність субантральної аугментації гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу. Для проведення дослідження обрано 22 пацієнта зі вторинною частковою адентією бічних ділянок верхньої щелепи, яким проведено операцію субантральної аугментації кісткового композиту у зв'язку з дефіцитом обсягу кісткової тканини по вертикалі. У досліджувану групу були відібрані пацієнти віком від 39 до 75 років без супутньої соматичної патології, що прямо або опосередковано впливає на репаративні функції кісткової тканини.

Скануюча електронна мікроскопія гранул графту показала, що матеріал, який представлений на дослідження, являє собою кальцій-дефіцитний гідроксиапатит з трикальцій-фосфатом. Зовні він має сферичну форму з незначними дефектами поверхні, які вірогідно утворені аморфним фосфатом кальцію. На перерізі матеріалу помітна значна кількість пор, відсоток яких досягає 65%. Розмір пор коливається від нанометрового діапазону (257 ± 134 нм) до мікронного розміру (369 ± 84 мкм). Таким чином, мезопориста структура матеріалу забезпечує міграцію клітин усередину гранул, так і дифузію рідин.

Пацієнти були включені в експеримент після підписання ними інформованої згоди. Критеріями оцінки якості одержаного кісткового регенерату служили дані гістологічного дослідження біоптатів

(гістоморфометрія з оцінкою долі зразка, заповненого кістковою тканиною, матеріалом трансплантату та сполучною тканиною), отримані у різні періоди в інтервалі від 6,5 до 12 місяців на етапі встановлення гвинтових імплантатів у зону аугментації. На клінічному етапі встановлення імплантату проведено оцінку якісної характеристики кісткового регенерату по Misch, а також оцінку якості первинної фіксації гвинтового імплантату відповідно до стандартного імплантологічного протоколу (оцінка торку).

Загалом було досліджено 52 ділянки аугментата та 67 ділянок власної кістки. До порівняння брали зону аугментата та власної кістки у одного і того ж пацієнта із однієї області встановлення імплантату. Таким чином вдалося максимально уникнути анатомічно обумовлених структурних розбіжностей кістки та аугментата в різних ділянках верхньощелепного синусу та у різних пацієнтів.

Результати дослідження біосумісності продемонстрували покращену адгезію остеобластів на поверхні зразків через добу після початку експерименту. Неорганічний кальцій-фосфат виступав специфічним стимулятором проліферації та диференціації клітин остеобластичного диферону. Через 3 та 5 днів після початку експерименту відсоток редукції резазуріну свідчив про більш активну проліферацію клітин на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу у порівнянні з контролем. Однак через 7 днів різниця із контролем зникла через заповнення поверхні лунок клітинами. Отже, матеріал є нетоксичним та стимулює адгезію і проліферацію остеобластів а також синтезу колагену клітинами.

Визначення продукції колагену як на першому, так і на другому тижні, показало, що клітини, які культивувались на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу, продукували майже удвічі більше колагену. Можна зробити висновок, що спостерігалася наявність індукованої продукції колагену клітинами, що призводила до активної побудови міжклітинного матриксу після імплантації.

Середній час утворення тромбу при контакті з гідроксиапатитом становив 55 ± 17 секунд. Досліджуваний матеріал був гідрофільним, але не поглинав весь об'єм крові без змішування. Згусток міцно з'єднував окремі фрагменти зразків між собою та дном посуду. Цільна кров згорталася за $3,4 \pm 22$ хвилини в чашках Петрі без матеріалу для трансплантації кістки. Таким чином, при взаємодії з кров'ю матеріал забезпечує її швидке згортання, що може забезпечити формування «фібринового каркасу» в процесі остеогенезу.

Терміни проведення імплантації варіювали від 6,5 до 12 місяців та були зумовлені особистими обставинами пацієнтів. Медіана часового проміжку після проведення аугментації склала 9,5 місяців (8,00; 11,75). Встановлено, що такі рамки часового проміжку експозиції не мали впливу на основні критерії якісної оцінки новоствореної кісткової тканини. При визначенні типу кісткової тканини за класифікацією Misch (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,072$; $p > 0,05$), оцінці однорідності (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,174$; $p > 0,05$), кровоточивості (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,036$; $p > 0,05$) та щільності тканини (коефіцієнт кореляції Спірмена $R = 0,084$; $p > 0,05$), а також при аналізі торків при установці дентальних імплантатів (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,154$; $p > 0,05$) не було виявлено суттєвих статистично значущих відмінностей у показниках пацієнтів в залежності від термінів експозиції аугментату. Було встановлено стабільне збереження обсягу аугментату, що характерно для синтетичних кісткових композитів, і відсутність вираженої реакції з боку мембрани Шнейдера як у ранні, так і у віддалені терміни імплантації.

Відмічалось превалювання другого і третього типу кісткової тканини Misch в групі аугментату в порівнянні із власною кістковою тканиною пацієнтів. Варто зауважити, що кількісний розподіл типу 2 і 3 (50:50%) кісткової тканини Misch в групі аугментату може говорити про стабільність процесів ремоделювання кісткової тканини в новоствореній кістці.

При аналізі густинних характеристик аугментату, середня його щільність склала $1132,596 \pm 334,887$ HU, що на 134,7% вище (в 2,35 разів), ніж у власної кістки пацієнта на тій же ділянці ($482,612 \pm 236,916$ HU). Тенденція до

збільшення щільності новоствореної кістки по відношенню до власної кістки може бути обумовлена перенасиченням зони аугментації гідроксилапатітом, що призводить до утворення більш щільних структур при хаотичній побудові кісткових трабекул при ремоделюванні.

Виражена кровоточивість у зоні аугментату визначалася у 67,3% спостережень. Слабка кровотеча в зоні аугментату визначалася у 32,7% спостережень. У той час як ті ж показники власної кістки пацієнтів склали відповідно: інтенсивна кровотеча – 47,8%, слабка кровотеча – 52,2% обстежених. Варто зазначити, що інтенсивна кровотеча із зони аугментату була на 19,5% вищою, ніж у групі власної кістки пацієнтів, різниця статистично значуща ($p=0,0334$).

При аналізі показників рівномірності будови кістки в області аугментату в 69,2% було виявлено рівномірну структуру, тоді як у зоні власної кістки пацієнта цей показник становив 3,0%. Нерівномірність структури власної кістки (97,0%) цілком корелює із загальновідомими даними анатомії верхньої щелепи.

При аналізі значень торка в зонах новоствореної кістки середнє значення торка становило 35 N/cm. У зонах власної кістки пацієнтів, що безпосередньо межують із зоною аугментації, середнє значення торка при інсталяції імплантату склало 25 N/cm.

Різниця показників торку на 71,4% на користь зони аугментації свідчить про поліпшення якісних характеристик альвеолярного відростка в зоні аугментації кісткового композиту на основі ГАП-ТКФ порівняно із власною кісткою пацієнта.

Виявлено, що в групі аугментації більшому типу кістки відповідає менше значення торку (коефіцієнт кореляції Кендала $R=-0,686$ $p<0,05$). При типі кістки 2 медіана торку на 33,3% більше, ніж при типі кістки 3. В той самий час в групі власної кістки спостерігається така ж сама зворотня кореляція (коефіцієнт кореляції Кендала $R=-0,295$ $p<0,05$) – більшому типу кістки відповідає менше

значення торку. При типі кістки 2 медіана торку на 20,0% більше, ніж при типі кістки 3 та 4.

Морфологічна оцінка результатів аугментації дозволила виявити наявність ознак активного остеогенезу в зонах інтересу. Значні ділянки біоптатів були сформовані розгалуженими кістковими трабекулами, товщина яких варіювала від 20 до 190 мкм. За результатами оцінки складу біоптатів, отриманих з зон синусліфтингу, можна зробити висновок, що більша частина Нанографту була заміщена кістковою та сполучною тканиною.

Дослідження структури та клітинного складу сполучної тканини дозволило виявити слабку імунну інфільтрацію, що відображає низьку імуногенність Нанографту.

Морфологічні характеристики тканин біоптатів свідчили про ініціацію механізмів прямого остеогенезу у зоні аугментації. У біоптатах всіх досліджених випадків виявлено сплетіння кісткових трабекул.

Використання нового графту з гідроксиапатиту - трикальційфосфату призводило до ефективного остеогенезу в зоні синусліфтингу з активним ремоделюванням кістки та ангіогенетичними процесами, що відбиває остеоіндуктивний та остеостимулюючий ефект біоматеріалу.

Характерно, що SATB2-позитивні клітини визначалися не тільки на поверхні кісткових трабекул, що формуються, а й в оточуючій сполучній тканині з кровоносними судинами. Цей феномен по суті відбивати активне остеогенне диференціювання клітин-попередниць скелетогенної лінії, передумовою якого є високий парціальний тиск кисню, що забезпечується відповідним ангіогенезом та кровопостачанням.

Аналіз клітинного складу біоптатів також свідчив про імунологічну інертність нового матеріалу, використання якого супроводжувалося слабкою реакцією CD8+лімфоцитів та M2-поляризацією макрофагів. Характерно, що сполучна тканина була багата на макрофаги, серед яких значну кількість представляли CD163+-клітини, що за фенотипом відносяться до M2-протизапальних макрофагів. CD163+ клітини формували щільну сітку, що

пронизувала ділянки навколо трабекул та кровоносних судин. Оскільки даний тип макрофагів відноситься до протизапального типу макрофагів, здатних продукувати широкий спектр факторів росту, вірогідно саме їх присутність у значній кількості забезпечувала переважання процесів остеогенезу та толерантність до біоматеріалу, використаного для відкритого синусліфтингу.

Оцінка будови фрагментів з зон аугментації виявило ознаки ефективного остеогенезу. Використаний для синусліфтингу біоматеріал продемонстрував біостимулюючий (остеоіндукуючий) ефект. Аугментація синусів гідроксиапатит трикальційфосфатом призводила до стимуляції остеогенного диференціювання клітин та активного остеогенезу з ознаками ремоделювання та заміщенням грубоволокнистої фіброзної кістки пластинчастою кістковою тканиною з утворенням остеонів.

Ключові слова: кістковопластичний матеріал, субантральна аугментація, біосумісність, адентія, лікування, верхнещелепна пазуха, запалення, кісткова тканина, дентальна імплантація, остеоінтеграція.

ANNOTATION

Kosinov O.S. Clinical and laboratory justification of the use of a new hydroxyapatite–tricalcium phosphate composite material in subantral augmentation – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 221 “Dentistry” (22 Health Care). Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

The work was carried out at the clinical base “Eksima Dentistry”, Zaporizhzhia, and at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University during 2021–2026.

The aim of the work was to scientifically substantiate the use of a new hydroxyapatite–tricalcium phosphate composite material in subantral augmentation by studying its osseointegration properties.

The scientific novelty of the obtained results lies in the fact that the structural advantages of the updated synthetic bone composite based on hydroxyapatite and tricalcium phosphate with a foamed formulation were determined. The biocompatibility of the synthetic bone composite was assessed in a laboratory experiment on cell cultures. The absence of immunogenicity of the material was demonstrated by morphological studies. Scientific data regarding the treatment of patients with secondary partial adentia of the upper jaw in the lateral sections who underwent subantral augmentation surgery were clarified and expanded.

The practical significance of the obtained results consists in increasing the effectiveness of the treatment of patients with secondary partial adentia of the upper jaw in the lateral sections by means of the method of subantral augmentation. The treatment method using a synthetic bone composite was improved based on the histological study of fragments of bone regenerate in the long term, and the effectiveness of subantral augmentation with this material was substantiated for the introduction of its use in clinical practice.

This dissertation research is characterized by methodological and chronological stages and is divided into two consecutive stages: laboratory and clinical.

At the first (laboratory) stage of the study, the biocompatibility of the bone composite in vitro was assessed. The study included an analysis of cytotoxicity as well as determination of the activity of osteoblast and fibroblast cultures on the surface of the bone composite in vitro. Based on the comparison of the dynamics of proliferation of osteoblasts and fibroblasts on the surface of the material, the adhesion capacity of these cells was assessed.

At the second (clinical) stage, the clinical effectiveness of subantral augmentation using a hydroxyapatite–tricalcium phosphate composite material was studied. Twenty-two patients with secondary partial adentia of the lateral sections of the upper jaw were selected for the study, who underwent subantral augmentation using the bone composite due to a deficiency of bone tissue volume in the vertical dimension. The study group included patients aged 39 to 75 years without concomitant somatic pathology that directly or indirectly affects the reparative functions of bone tissue.

Scanning electron microscopy of graft granules showed that the material presented for study is calcium-deficient hydroxyapatite with tricalcium phosphate. Externally, it has a spherical shape with minor surface defects that are probably formed by amorphous calcium phosphate. A significant number of pores are visible on the cross-section of the material, the proportion of which reaches 65%. The pore size ranges from the nanometer scale (257 ± 134 nm) to the micrometer scale (369 ± 84 μ m). Thus, the mesoporous structure of the material ensures migration of cells into the granules as well as diffusion of liquids.

Patients were included in the experiment after signing informed consent. The criteria for assessing the quality of the obtained bone regenerate were the data of histological examination of biopsies (histomorphometry with assessment of the proportion of the sample filled with bone tissue, graft material and connective tissue) obtained at different time points within the interval from 6.5 to 12 months at the stage of screw implant placement in the augmentation zone. At the clinical stage of implant

placement, the qualitative characteristics of bone regenerate were assessed according to Misch, and the quality of primary fixation of the screw implant was assessed according to the standard implantology protocol (torque assessment).

In total, 52 areas of the augmentate and 67 areas of native bone were examined. For comparison, the area of the augmentate and the area of native bone from the same patient and from the same implantation region were taken. This made it possible to minimize anatomically determined structural differences between bone and augmentate in different regions of the maxillary sinus and among different patients.

The results of the biocompatibility study demonstrated improved adhesion of osteoblasts to the surface of the samples one day after the beginning of the experiment. Inorganic calcium phosphate acted as a specific stimulator of proliferation and differentiation of osteoblastic cells of the differon. After 3 and 5 days from the start of the experiment, the percentage of resazurin reduction indicated more active cell proliferation on the surface of the calcium phosphate material compared with the control. However, after 7 days the difference with the control disappeared due to filling of the wells' surface with cells. Thus, the material is non-toxic and stimulates adhesion and proliferation of osteoblasts as well as collagen synthesis by cells.

Determination of collagen production both during the first and the second week showed that cells cultured on the surface of the calcium phosphate material produced almost twice as much collagen. It can be concluded that collagen production by the cells was induced, which led to active formation of the intercellular matrix after implantation.

The average time of thrombus formation upon contact with hydroxyapatite was 55 ± 17 seconds. The studied material was hydrophilic but did not absorb the entire volume of blood without mixing. The clot firmly connected individual fragments of the samples with each other and with the bottom of the dish. Whole blood coagulated in 3.4 ± 22 minutes in Petri dishes without bone graft material. Thus, during interaction with blood, the material ensures its rapid coagulation, which may ensure the formation of a fibrin scaffold during osteogenesis.

The time of implantation varied from 6.5 to 12 months and depended on the personal circumstances of the patients. The median time interval after augmentation was 9.5 months (8.00; 11.75). It was established that such a duration of exposure had no influence on the main criteria of qualitative assessment of newly formed bone tissue.

When determining the type of bone tissue according to Misch ($\gamma = -0.072$; $p > 0.05$), studying the homogeneity of bone tissue ($\gamma = -0.174$; $p > 0.05$), bleeding ($\gamma = 0.036$; $p > 0.05$), density of bone tissue (Spearman $R = 0.084$; $p > 0.05$), as well as analyzing torques during implant placement ($\gamma = 0.154$; $p > 0.05$), no statistically significant differences in patient indicators were found depending on the duration of augmentation exposure. Stable preservation of augmentation volume, which is characteristic for synthetic bone composites, and the absence of a pronounced reaction from the Schneiderian membrane both in early and late terms of implantation were established.

A predominance of the second and third types of bone tissue according to Misch was observed in the augmented group compared with the patients' own bone tissue. It should be noted that the quantitative distribution of types 2 and 3 (50:50%) of bone tissue according to Misch in the augmented group may indicate stability of bone remodeling processes in the newly formed bone.

When analyzing density characteristics of the augmentate, its average density was 1132.596 ± 334.887 HU, which is 134.7% higher (2.35 times higher) than that of the patient's own bone in the same region (482.612 ± 236.916 HU). The tendency toward increased density of the newly formed bone relative to the patient's own bone may be explained by oversaturation of the augmentation zone with hydroxyapatite, which leads to formation of denser structures with chaotic arrangement of bone trabeculae during remodeling.

Pronounced bleeding in the augmentation area was observed in 67.3% of cases, while mild bleeding was observed in 32.7% of cases. In contrast, in the areas of the patients' own bone the respective indicators were: intense bleeding – 47.8%, mild bleeding – 52.2%. Thus, intense bleeding from the augmentation area was 19.5%

higher than in the areas of the patients' own bone, and this difference was statistically significant ($p = 0.0334$).

When analyzing the uniformity of bone structure in the augmentation area, a homogeneous structure was detected in 69.2% of cases, whereas in the areas of the patients' own bone this indicator was 3%. Structural heterogeneity of the patients' own bone (97.0%) fully corresponds to known anatomical characteristics of the upper jaw. When analyzing torque values in the areas of newly formed bone, the average torque value was 35 N·cm. In the areas of the patients' own bone directly adjacent to the augmentation area, the average torque value during implant placement was 25 N·cm. The difference in torque values by 71.4% in favor of the augmentation area indicates improvement of qualitative characteristics of the alveolar process in the augmentation zone of the bone composite based on hydroxyapatite–tricalcium phosphate compared with the patient's own bone.

It was established that in the augmentation group a larger bone type corresponds to a lower torque value (Kendall correlation coefficient $R = -0.686$; $p < 0.05$). In bone type 2 the median torque value is 33.3% higher than in bone type 3. At the same time, in the group of the patients' own bone the same inverse correlation is observed (Kendall correlation coefficient $R = -0.295$; $p < 0.05$): a larger bone type corresponds to a lower torque value. In bone type 2 the median torque is 20.0% higher than in bone types 3 and 4. Morphological evaluation of the augmentation results revealed signs of active osteogenesis in the investigated areas. Significant regions of the biopsies were formed by branched bone trabeculae with thickness ranging from 20 to 190 μm . Based on the results of evaluation of the composition of biopsies obtained from sinus lifting areas, it can be concluded that the majority of Nanograft was replaced by bone and connective tissue.

Study of the structure and cellular composition of connective tissue revealed weak immune infiltration, which reflects the low immunogenicity of Nanograft.

Morphological characteristics of biopsy tissues indicated the initiation of mechanisms of direct osteogenesis in the augmentation zone. In biopsies of all studied cases a network of bone trabeculae was detected.

The use of a new graft based on hydroxyapatite–tricalcium phosphate resulted in effective osteogenesis in the sinus lifting zone with active bone remodeling and angiogenic processes, reflecting the osteoinductive and osteostimulating effect of the biomaterial.

SATB2-positive cells were detected not only on the surface of forming bone trabeculae but also in the surrounding connective tissue with blood vessels. This phenomenon reflects active osteogenic differentiation of progenitor cells of the skeletogenic lineage, the prerequisite for which is a high partial pressure of oxygen ensured by adequate angiogenesis and blood supply.

Analysis of the cellular composition of biopsies also indicated immunological inertness of the new material, the use of which was accompanied by a weak reaction of CD8+ lymphocytes and M2 polarization of macrophages. It is characteristic that the connective tissue was rich in macrophages, among which a significant number were CD163+ cells belonging by phenotype to anti-inflammatory M2 macrophages. CD163+ cells formed a dense network penetrating the regions around trabeculae and blood vessels. Since this macrophage phenotype belongs to the anti-inflammatory type capable of producing a wide range of growth factors, their presence in significant numbers likely ensured predominance of osteogenesis processes and tolerance to the biomaterial used for open sinus lifting.

Evaluation of the structure of fragments from augmentation zones revealed signs of effective osteogenesis. The biomaterial used for sinus lifting demonstrated a biostimulating (osteoinductive) effect. Augmentation of sinuses using hydroxyapatite–tricalcium phosphate stimulated osteogenic differentiation of cells and active osteogenesis with signs of remodeling and replacement of coarse-fiber bone with lamellar bone tissue with formation of osteons.

Keywords: bone grafting material, subantral augmentation, biocompatibility, adentia, treatment, maxillary sinus, inflammation, bone tissue, implantation, dental implantation, osseointegration.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kosinov O, Manukhina O, Volchykhina K, Mishchenko O, Liutyi A, Ramanaviciute A, Ratautaite V, Ramanavicius A. Cross-Sectional Clinical Evaluation of Subantral Augmentation Using Nano Graft Composite: Implications for Implant Success. *Dentistry Journal*. 2026; 14(1):57. <https://doi.org/10.3390/dj14010057> (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Volchykhina K. – технічне оформлення статті; Manukhina O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Liutyi A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanaviciute A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ratautaite V. – технічне оформлення статті; Ramanavicius A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
2. Mishchenko O, Yanovska A, Sulaieva O, Moskalenko R, Pernakov M, Husak Y, Korniienko V, Deineka V, Kosinov O, Varakuta O, et al. From Synthesis to Clinical Trial: Novel Bioinductive Calcium Deficient HA/ β -TCP Bone Grafting Nanomaterial. *Nanomaterials*. 2023; 13(12):1876. <https://doi.org/10.3390/nano13121876> (Дисертантом проведено збір та розробку матеріалів, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті; Sulaieva O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Moskalenko R. – допомога у

- статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Pernakov M. – аналіз отриманих результатів; Husak Y. – технічне оформлення статті; Korniienko V. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Deineka V. – технічне оформлення статті; Varakuta O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanavicius S. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних ; Varzhapetjan S. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanaviciene A. – технічне оформлення статті; Krumina D. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних ; Kniņše G. – технічне оформлення статті ; Ramanavicius A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Pogorielov M. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
3. Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O, et al. Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. *Polymers (Basel)*. 2023;15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822 (Дисертантом проведено збір та аналіз літературних джерел, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Maksymov D. – технічне оформлення статті; Moskalenko R. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanavicius A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Pogorielov M. – аналіз отриманих результатів)
4. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення структурного складу біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів за допомогою матеріалу Нанографт (NanoGraft) / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. *Патологія*. 2025.Т. 22, № 2(64).С. 141-147. DOI: 10.14739/2310-1237.2025.2.333002 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення,

- статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Міщенко О. М. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
5. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення імуногенності біоматеріалу Нанографт (NanoGraft) із зони аугментації верхньощелепних синусів / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. Запорізький медичний журнал. 2025. Т. 27, № 6(153). С. 487-494 DOI: 10.14739/2310-1210.2025.6.335692 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Міщенко О. М. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
 6. Косінов О. С., Міщенко О. М. Морфологічний аналіз якості кісткового регенерату в зоні аугментації нового HA/B-TCP. XXIV International scientific and practical conference “Information and innovative technologies in education in modern conditions” : Матер. наук.-практ. конф. (Варна, Болгарія, 20-13.06.2023). С.157-158. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. – остаточне затвердження тез)
 7. Косінов О. С., Міщенко О. М. Гістоморфометричний аналіз кісткової тканини, отриманої за допомогою аугментації нанографт. Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” : Матер. наук.-практ. конф. (Полтава, 16.06.2023). С. 57-58. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
 8. Косінов О. С., Міщенко О. М. Створення та аналіз оптимізованого кісткового композиту з підвищеним ефектом біосумісності. Promising ways of improving science and scientific solutions: Матер. наук.-практ.

- конф. (Варшава, Польща, 26-28.06.2023). С. 93-95. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
9. Косінов О. С., Міщенко О. М. Клінічний аналіз якісного складу аугментату після відкритого синусліфтингу. Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice: Матер. наук.-практ. конф. (Ізмаїл, 22.12.2023). С. 100. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
 10. Міщенко О. М., Косінов О. С. Аналіз торку при установці імплантату в ділянку субантральної аугментації та власну кістку. Current issues of science, education and technology in Ukraine and the world: Матер. наук.-практ. конф. (Тампере, Фінляндія, 29.12.2023). С. 51-52. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
 11. Міщенко О. М., Косінов О. С. Оцінка ступеню васкуляризації кістки після субантральної аугментації. Current state and priorities of modernization of science, education and technology: Матер. наук.-практ. конф. (Біла Церква, 10.01.2024). С. 71-72. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ANNOTATION.....	9
СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	15
ЗМІСТ.....	18
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
Розділ 1 СУЧАСНІ ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ СКАФФОЛДІВ ІЗ СИНТЕТИЧНИХ КОМПОЗИТІВ ДЛЯ ТКАНИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	26
1.1 Основи процесів репаративної фази регенерації кісткової тканини.....	26
1.2 Сучасні відомості про кісткові біоматеріали.....	28
1.3 Основи синтезу кісткових композитів.....	30
1.4 Методики підвищення біоактивності кісткових композитів ..	34
1.5 Морфологічні аспекти ремоделювання кісткового трансплантату.....	39
Розділ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	45
2.1 Контингенти дослідження	45
2.2 Матеріали дослідження.....	47
2.3 Методи дослідження	50
Розділ 3 ВИЗНАЧЕННЯ СТРУКТУРНИХ ХАРАКТЕРИСТИК НОВОГО ГІДРОКСИПАТИТ-ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТНОГО КІСТКОВОГО КОМПОЗИТУ ТА ОЦІНКА ЙОГО БІОСУМІСНОСТІ IN VITRUM.....	68
3.1 Результати морфологічного дослідження гранул ГАП-ТКФ	70
3.2 Характеристики нового гідроксиапатит- трикальційфосфатного кісткового композиту, отримані шляхом	

	інфрачервоної спектроскопії	
	3.3. Характеристики гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту, отримані шляхом рентгенівської дифракції	73 76
	3.4. Біосумісність гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту in vitro.....	78
	3.5. Взаємодія гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту з кров'ю.....	82
Розділ 4	МОРФОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ АУГМЕНТАЦІЇ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ ТА ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОГЕНЕТИЧНИХ ТА ІМУНОГЕНИХ ЕФЕКТІВ НАНОГРАФТУ.....	88
	4.1 Структурний склад біоптатів з зони аугментації синусів за допомогою Нанографт	88
	4.2 Характеристика сполучної тканини та параметри імуногенності біоматеріалу, використаного для аугментації	95
	4.3 Оцінка ефективності остеогенезу в зоні синусліфтингу із застосуванням аугментату з нового композитного матеріалу з ГА-ТКФ	99
Розділ 5	КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ НОВОГО СИНТЕТИЧНОГО КІСТКОВОГО КОМПОЗИТУ ГА-ТКК.....	109
	5.1 Визначення типу новоутвореної кісткової тканини.....	110
	5.2 Рентгенографічне визначення щільності кістки	112
	5.3 Визначення якості кісткового аугментату за клінічними критеріями під час інсталяції імплантату.....	
	5.4. Показники торка при інсталяції імплантату, що забезпечують первинну фіксацію як фактор успішної інтеграції.....	115
	5.5 Оцінка післяопераційного перебігу.....	119

	123
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	133
ВИСНОВКИ.....	139
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	141
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	142
ДОДАТОК А.....	162
ДОДАТОК Б.....	167
ДОДАТОК В.....	170

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ТКФ - трикальційфосфат

ГА - гідроксиапатит

ГА-ТКФ – гідроксиапатит-трикальційфосфат

ЗДМФУ – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

КФК – кальційфосфатвмісна кераміка

ДК – дендритні клітини (dendritic cells, DC)

БМ – біоматеріал (biomaterial)

ВСТУП

Потреба у відновленні пошкодженої або втраченої кістки в щелепно-лицьовій ділянці та атрофія щелеп, пов'язана зі значною втратою кісткової тканини є широко розповсюдженими серед старіючого населення. У процедурах дентальної імплантації, які використовуються для реституції кісткових дефектів щелепно-лицьової ділянки, переважно застосовується збільшення обсягу кістки, оскільки успішна довгострокова імплантаційна терапія залежить від адекватного обсягу кістки у місці встановлення імплантату [145, 1].

Для заміни кісткових структур були розроблені різні типи синтетичних неорганічних матеріалів [196,2]. Ці матеріали в основному використовувалися в інженерії кісткової тканини: для створення ex vivo комплексів клітин і каркасу, як матеріали для заповнення кісткових дефектів, протези або як покриття для поліпшення зчеплення натуральної кістки з підлягаючим матеріалом. Серед матеріалів, що використовуються в матриксах для кістково-тканинної інженерії, найчастіше зустрічається кальційфосфатвмісна кераміка [198, 3]. До них відносяться гідроксіапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), β -трикальційфосфат ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) та двофазна кераміка гідроксіапатит/ β -трикальційфосфат. При виробництві кераміки, що містить фосфат кальцію, різної стехіометрії, найчастіше використовують матеріали, первинні іонні компоненти яких найбільш близькі до компонентів природного кісткового гідроксиапатиту. Чистий гідроксіапатит має відношення кальцію до фосфору 1,67. Його параметри решітки включають вісь 0,94 нм та вісь з 0,69 нм. В інфрачервоному спектрі присутні смуги поглинання тільки гідроксильних і фосфатних груп. Інші матеріали на основі фосфату кальцію, що рекомендуються для використання як каркасів в інженерії кісткової тканини, включають октакальційфосфат, вітлокіт, магнійзаміщені трикальційфосфати, цинкзаміщені трикальційфосфати, карбонатзаміщені апатити і фторидзаміщених апатитів.

Деякі властивості матеріалу, такі як пористість, розмір кристалів, склад і розчинність, які значною мірою визначають долю матеріалу як *in vivo*, так і *in vitro* можуть бути змінені в процесі виробництва. Завдяки іонній природі та гідрофільності керамічних матеріалів вони мають спорідненість до білків, що робить їх відповідними носіями для біоактивних пептидів або факторів росту. Однак, незважаючи на те, що ці біоматеріали на основі фосфату кальцію є остеокондуктивними, вони за своєю природою не є остеоіндуктивними, отже вони не здатні підтримувати синтез кістки *de novo* в ектопічній ділянці.

Поліпшення якісних характеристик аугментату у віддалені терміни є актуальною проблемою сучасної стоматології, а використання матеріалу, отриманого з верхньощелепного синуса, який утворився внаслідок підсадки графта, що має підвищені остеокондуктивні та остеоіндуктивні властивості – перспективним шляхом її вирішення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано відповідно до НДР кафедри стоматології післядипломної освіти (№ держреєстрації 0124U004521) «Вдосконалення діагностики терапевтичного, ортопедичного і хірургічного лікування найбільш поширених стоматологічних захворювань та їх ускладнень у населення, постраждалого від воєнних дій» Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Мета дослідження: наукове обґрунтування використання нового гідроксиapatит-трикальційфосфатного композитного матеріалу при субантральній аугментації шляхом дослідження його остеоінтеграційних властивостей.

Для досягнення поставленої мети було реалізовано наступні **задачі**:

1. Дослідити біосумісність кісткового композиту *in vitro*.
2. Встановити вираженість імуногенності матеріалу гідроксиapatит – трикальційфосфату шляхом морфологічного дослідження.
3. Оцінити ефективність терапії із застосуванням матеріалу гідроксиapatит – трикальційфосфату на підставі гістологічного дослідження фрагментів кісткового регенерату у віддалені терміни.

4. Надати якісну оцінку клінічного використання гідроксиапатит – трикальційфосфату у субантральної аугментації.

Об’єкт дослідження: остеointegraція гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу.

Предмет дослідження: комплекс морфологічних, біохімічних, остеокондуктивних та клінічних характеристик нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу та його ефективність при субантральній аугментації.

Методи дослідження: лабораторний, клінічний, статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів.

1. **Вперше** визначені структурні переваги оновленого синтетичного кісткового композиту на основі гідроксиапатиту та трикальційфосфату зі спущеною формулою, що дозволяє рекомендувати його як ефективний засіб для кісткової пластики.

2. Показано відсутність імуногенності матеріалу шляхом морфологічного дослідження: дослідження структури та клітинного складу сполучної тканини дозволило виявити слабку імунну інфільтрацію, що відображає низьку імуногенність.

3. Оцінено біосумісність синтетичного кісткового композиту у лабораторному експерименті на культурах клітин: через 3 та 5 днів після початку експерименту відсоток редукції резазуріну свідчив про більш активну проліферацію клітин на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу у порівнянні з контролем.

4. Розширені та поглиблені наукові дані щодо лікування хворих на вторинну часткову адентію верхньої щелепи в бічних відділах, яким проведено операцію субантральної аугментації: усереднений показник щільність тканини у ділянці аугментації новим матеріалом був вище ($1132,596 \pm 334,887$ HU) ніж у власної кістки ($482,612 \pm 236,916$ HU), $p < 0,0001$.

Практична значущість отриманих результатів.

Підвищена ефективність лікування хворих на вторинну часткову адентію верхньої щелепи в бічних відділах методом субантральної аугментації.

Вдосконалено методику терапії із застосуванням синтетичного кісткового композиту на підставі гістологічного дослідження фрагментів кісткового регенерату у віддалені строки, та доведена ефективність субантральної аугментації цим матеріалом для впровадження його застосування в клінічну практику.

Особистий внесок здобувача. Автором спільно з керівником сформовано тему дослідження, проведено аналіз сучасних джерел інформації за даною темою, проведено розробку концепції та дизайну дослідження, розроблено протокол обстеження контингенту. Автором самостійно проведено формування контингенту дослідження з безпосередньою участю в наданні спеціалізованої допомоги усім особам, які склали контингент дослідження. Автором самостійно проведено увесь комплекс стоматологічних обстежень, самостійно систематизовано та статистично оброблено їх результати, самостійно проведено формулювання висновків дослідження.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях: XXIV міжнародній науково-практичній конференції “Information and innovative technologies in education in modern conditions” (Varna, Bulgaria, 20-23 червня 2023), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” (м. Полтава, 16.06.2023 року), XXV міжнародній науково-практичній конференції “Promising ways of improving science and scientific solutions” (Warsaw, Poland, 26-28 червня 2023), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice” (Ізмаїл, 22.12.23), міжнародній науково-практичній конференції “Current issues of science, education and technology in ukraine and the world” (Tampere, Finland

29.12.23), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Current state and priorities of modernization of science, education and technology” (Біла Церква, 10.01.24).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 друкованих наукових робіт, з яких 5 статей, надрукованих у виданнях, що включені до наукометричних баз Scopus та (або) Web of Science, 6 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій, симпозіумів тощо.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 171 сторінках друкованого тексту, складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, що містить 167 джерел (8 кирилицею і 159 латиною) та додатків. Робота ілюстрована 14 таблицями і 30 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ СКАФФОЛДІВ ІЗ СИНТЕТИЧНИХ КОМПОЗИТІВ ДЛЯ ТКАНИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

1.1 Основи процесів репаративної фази регенерації кісткової тканини

Регенеративна стоматологія є основною галуззю регенеративної медицини, яка фокусується на кількох стоматологічних патологіях, включаючи дефекти кістки, такі як періодонтит, резорбція альвеолярної кістки та деструктивні захворювання зубів, такі як карієс та некроз пульпи. Всі ці локалізовані захворювання кістки безпосередньо впливають на якість життя пацієнтів та ресурси охорони здоров'я. Щоб всебічно впоратися з цими захворюваннями, терапія має бути спрямована як на регенерацію кістки, так і на регенерацію зубів [4]. З позиції регенерації структура кістки являє собою васкуляризовану сполучну тканину, що має інертну здатність до ремоделювання у відповідь на зовнішні та внутрішні фактори в процесі росту та розвитку скелета, а також до регенерації після травм та патологічних станів. Ці процеси складаються з низки міжклітинних та внутрішньоклітинних складних біологічних взаємодій за участю різних типів клітин та молекулярних сигнальних шляхів [5].

У черепно-лицьовій ділянці часто відбувається значна втрата кісткової тканини через пухлинні процеси, травматичні ушкодження, захворювання пародонту, вроджені аномалії або резорбцію внаслідок втрати зубів. В оральної та щелепно-лицьової хірургії та ортопедії існують стани, при яких регенерація кістки потрібна у великих кількостях, що перевищують нормальну здатність до самовідновлення. Наприклад, при скелетній реконструкції великих дефектів скелета, таких як зубні імплантати, або коли порушена вроджена здатність до регенерації (наприклад, при остеопорозі), необхідна оптимізація

регенеративного процесу, що підтримує, щоб підвищити ймовірність успіху лікування [6].

Золотим стандартом лікування для покращення процесу загоєння кісткових дефектів є кісткова пластика (аутотрансплантати або алотрансплантати) [7; 8].

Контрольоване, кероване та повне формування кістки – це давно бажаний святий Грааль інженерії кісткової тканини. В даний час "золотим стандартом" нарощування кістки є аутологічні кісткові трансплантати. Зазвичай використовуються в ортопедичній та щелепно-лицьовій хірургії, вони забезпечують велику гістосумісність, структурну підтримку та становлять мінімальний ризик імуногенної відповіді [9; 10].

Однак важливо враховувати, що застосовність лікування аутотрансплантатом обмежена відносно високими показниками захворюваності на донорській ділянці та нестачею доступної кількості трансплантату. Алотрансплантації також перешкоджають проблеми з васкуляризацією та інтеграцією кісткової тканини з реципієнтом зоною [11].

Для правильного розуміння роботи біоматеріалів слід коротко розглянути процеси репаративної фази регенерації кісткової тканини. Утворення гематоми: у стаціонарному стані в місці порушення цілісності кістки накопичуються клітини крові, що запобігає подальшій кровотечі. Звуження кровоносних судин також пригнічує кровотечу. Через кілька годин на місці перелому внаслідок скупчення клітин крові та плазмового фібриногену утворюється гематома, що сприяє зародженню маткової мозолі. Гематома забезпечує місце перелому різними факторами зростання для подальшого ініціювання регенерації. Хоча ця стимулююча функція гематоми корисна у разі перелому, в умовах утворення грануляційної тканини гематома займає єдиний простір і погано впливає на кровообіг, що призводить до уповільнення процесу регенерації. Дійсно, потік скорочується і піддається протеолізу до того, як у нього проникне епітелій [12; 13; 14]. Лікування великих кісткових дефектів є серйозною медичною проблемою у всьому світі. Імплантація біоматеріалу вважається важливим

способом сприяння репарації кістки, але її ефективність залишається складною проблемою [15; 16; 17]. Регенерація кістки є добре організованим процесом, що включає взаємодію різних складних біологічних процесів, включаючи ранню запальну імунну регуляцію, ангиогенез, остеогенне диференціювання та остеогенез, фізико-хімічні [18; 19], механічні та остеогенні властивості, пов'язані з формуванням кістки [3; 20; 21; 22]. Однак регулююча роль імунної системи, що часто ігнорується, в мікрооточенні кістки, опосередкованому біоматеріалом, може призвести до небажаних ефектів відновлення кістки [23; 24]. Після імплантації *in vivo* біоматеріали взаємодіють з імунними клітинами та можуть запускати запальну реакцію, при цьому залучені типи клітин та тривалість реакції помітно впливають на терапевтичні показники, від формування фіброзу до регенерації (остеогенез та ангиогенез) [25, 26]. Неконтрольована запальна реакція може порушити гомеостаз кістки, що призведе до уповільнення загоєння ран та регенерації кісткової тканини. Навпаки, корисне протизапальне імунне мікросередовище, що модулюється біоматеріалами, може забезпечити більш ефективне диференціювання кісткових клітин, покращення утворення кровоносних судин та успішну довгострокову імплантацію [27; 28; 29; 30].

Регенерація скелетної тканини, що досягається шляхом поєднання попередньо вирощених клітин та факторів росту з відповідним каркасом, є багатообіцяючим підходом, проте синтетичні замітники кісткового трансплантату з властивими їм остеоіндуктивними властивостями можуть запропонувати комплексніше рішення [31].

1.2 Сучасні відомості про кісткові біоматеріали

В даний час як матрикси використовується широкий спектр біоматеріалів. Основні проблеми, такі як збільшення часу операції, обмежена доступність та ризик захворюваності донорської ділянки, призвели до розробки синтетичних замінників кісткового трансплантату [32; 33].

Слід уточнити, що натуральна кістка є різновидом нанокompозитного матеріалу, який є гетерогенним і анізотропним. Його основні компоненти мають кілька структурних рівнів від макро до наномасштабу. Структура від зовнішньої щільної/кортикальної кістки до внутрішньої губки/трабекули є рівнем макро- і мікроструктури відповідно [34]. Нанокompозити, що в основному складаються з мінералізованих колагенів і мінералів, мають характеристики кісткових наноструктур. Тому, щоб втілити нові відкриття в нові пристрої для клінічного використання, настійно рекомендується імітувати природну функціональність кістки за допомогою деяких передових технологій, включаючи 3D-біодрук та електроспінінг [35].

Таким чином, визначення біоматеріалу було змінено з «нежиттєздатного матеріалу, що використовується в медичному пристрої, призначеного для взаємодії з біологічними системами» [36; 37] до «матеріалу, призначеного для прийняття форми, яка може направляти за допомогою взаємодії з живими системами протягом будь-якої лікувальної чи діагностичної процедури» [38]. Таке оновлення являє собою розширення та розвиток науки та техніки біоматеріалів. Це визначення також характеризує природу біоматеріалів як мультидисциплінарну, міжфункціональну та трансляційну. Хімічні розширені склади та композити поєднують у собі властивості фосфатів кальцію, такі як біосумісність, нетоксичність, хімічна та структурна подібність з твердими тканинами, з властивостями біосумісних або інертних елементів, що підвищують їх біоактивність, механічну міцність, еластичність, ієрархію [39; 40; 41]. Синтетичні біоматеріали для кістково-регенеративного лікування використовують завдяки їх біологічній ефективності, яка характеризується біосумісністю, біоактивністю та остеокондуктивними властивостями [42]. Замінники кістки на основі CaP забезпечують прикріплення, проліферацію, міграцію та фенотипічну експресію кісткових клітин, що призводить до утворення нової кістки у безпосередньому контакті з біоматеріалом [43]. Матеріали для трансплантатів кісток на основі CaP зазвичай доступні у вигляді гранул, блоків і, останнім часом, у вигляді цементу. CaP-цементи (CPC) є

найбільш привабливими CaP для клінічного застосування завдяки їх здатності вводити та формувати у вигляді пасти, що забезпечує мінімально інвазивне застосування та оптимальне заповнення кісткових дефектів неправильної форми [44].

1.3. Основи синтезу кісткових композитів

Кераміка з фосфату кальцію (CaP) природним чином утворюється в твердих тканинах організму людини шляхом біомінералізації, і з точки зору біосумісності штучні матеріали з CaP повинні мати оптимальні хімічні та фізіологічні властивості. Однак біологічні фосфати кальцію мають такі важливі особливості, як погана кристалічність, високий ступінь заміщення елементів складу і кристалити дуже малого розміру, що часто перебувають у тісному контакті з матрицею білка, що формується [45]. Ці унікальні характеристики корелюють з видатними функціональними властивостями мінералізованих тканин, та дослідження нових шляхів та процесів синтезу для отримання біоміметичної кераміки та композитів на основі CaP здається гарною схемою для подальшого просування у синтезі біокераміки з кращими характеристиками. Крім того, відкриття чудових властивостей біосумісності та біоактивності матеріалів системного складу $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ розширило можливості дизайну та функціональності біокерамічних матеріалів [46]. Отримання фосфатів кальцію, близьких за складом, структурою, кристалічністю, морфологією та біологічними властивостями до твердих тканин організму, є складним завданням для дослідників [47]. Нанорозмірний низькокристалічний гідроксиапатит, отриманий мокрим хімічним осадженням, близький за хімічним складом і розміром частинок до біологічного апатиту, але позбавлений основних іонів заміщення Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , а також має високу реакційну здатність [48]. Високотемпературні фази, які використовуються в медичній практиці, такі як гідроксиапатит (ГА) і α -, β -трикальційфосфати (α -, β -ТКФ) (моно- або багатофазні) [49], отримують у дві стадії: (1) синтез прекурсорів та (2) високотемпературна обробка останніх. Біоміметичний підхід,

що передбачає використання моделюваної рідини організму (SBF) як середовище для процесів, що протікають, дозволяє отримувати кісткоподібні нанорозмірні матеріали зі складом та іонними включеннями, аналогічними твердим тканинам. Змодельовані рідини організму (EBSS, HBSS, SBFc, SBFr) були розроблені для імітації складу позаклітинної плазми людини [50]. Вони являють собою складні багатокomпонентні системи за участю іонів Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} та SO_4^{2-} , пересичені по фосфатних та карбонатних солях, що робить їх нестійкими та створює умови для одночасного виникнення стійких метастабільних процесів кристалізації, що супроводжуються процесами розчинення, іонного обміну та ін. [51].

Обробка прекурсорів (фільтрація, промивання, прожарювання) призводить до зміни кристалів та агломерації, тому необхідна розробка нових технологій обробки, що зберігають вихідні нанокристали. Доведено вплив різних біосумісних органічних добавок у реакційне середовище, таких як природні полісахариди (гуарова камедь та ксантанова камедь), амінокислоти (гліцин, аланін та валін) та поліоли (гліцерин) на склад та морфологію отриманих прекурсорів та вид гранулометричного складу.

Морфологія частинок прожарених зразків залежить як від процесу осадження, так і від подальшої обробки. Стандартний підхід, що включає фільтрацію, промивання, сушіння та прожарювання, дозволив отримати щільну безпористу масу. Щоб уникнути агломерації частинок і для отримання дрібнозернистих неспечених керамічних порошків певного складу, близького до твердих тканин, був розроблений метод, що включає наступні етапи: 1) біоміметичне осадження іонно-модифікованих прекурсорів кальцій-фосфату в різних електролітних системах; (2) гелеутворення суспензії вихідного маткового розчину з ксантановою камеддю; (3) ліофілізація при 56°C ; (4) низькотемпературне (300°C) прожарювання модифікованої суспензії протягом 1 год; (5) промивання прожареного зразка водою при співвідношенні тверда речовина: рідкість 1:20; (6) вторинне гелеутворення промитого зразка; (7) ліофілізація при 56°C ; (8) ступінчасте спікання до 1000°C [52].

Вибрано керамічні порошки з $Zn/(Ca+Mg+Zn) = 0; 0,01; 0,03; 0,13$ та $Mg/(Ca+Mg+Zn) = 0; 0,02; 0,05; 0,10$ були протестовані *in vitro* [53] та *in vivo* [205] для оцінки їх цитотоксичності та реакції кісткової тканини. Результати показали, що випробувані матеріали є біосумісними, остеоінтегрованими та нетоксичними. Вони не викликають запалення та викликають легку реакцію на стороннє тіло. Вони біорозкладаються з біохімічними маркерами кістки в межах фізіологічних норм. Таким чином, була доведена їхня здатність до регенерації та реконструкції кістки.

Для виготовлення кальцій-фосфатних тіл з мікро-, мезо- та макропористістю, придатних для кісткових імплантатів, були розроблені зразки з використанням різних за природою та вмістом природних полімерів, таких як рослинні полісахариди (ксантанова камедь, карагенан) та желатин тваринного походження. Їх використання засноване на їх здатності поглинати воду та поступово розкладатися в організмі, забезпечуючи протягом тривалого часу пористість кісткових імплантатів, необхідну для органічних клітин. Розроблено технологію отримання правильно формованих композиційних матеріалів, що включає: приготування гідрогелів заданого складу; приготування та гомогенізація гель-порошкової композитної суміші; формування відповідним чином; ліофілізація; модифікація желатину 1% розчином глутарового альдегіду. Найкращий композиційний матеріал складається з Zn-модифікованого β -трикальційфосфату ($Zn/(Ca+Mg+Zn) = 0,13$) порошок/желатин/ксантанова камедь/карагенан/вода у пропорціях: 73,89/0,12/0,12 /2,46/1,23/22,17. (Мас.%). Зберігання зразка протягом місяця в SBF призводило до утворення нової фази та часткового розчинення полімерів [54].

Упорядкована мезопориста кераміка є класом пористих матеріалів з однорідними мезопорами від 2 до 50 нм, а також упорядкованими мезоструктурами. Ці матеріали були формально визначені у контексті характеристик фізичної сорбції. Залежно від переважних розмірів пор пористі тверді матеріали класифікуються Міжнародним союзом теоретичної та прикладної хімії як мікропористі з діаметром до 2 нм; макропористі, що мають

розміри пір понад 50 нм; і мезопористий з використанням префіксу «мезо», що означає середній або проміжний між 2 і 50 нм [200]. Хоча мезопори присутні в аерогелях та стовпчастих глинах, які демонструють неупорядковані системи пір з широким розподілом пір за розмірами, наша увага зосереджена на впорядкованій мезопористій кераміці, що відповідає аморфному силікату. Тип матеріалу, синтезованого у лабораторії, під назвою SBA-15 (Santa Barbara Amorphous No. 15). Вперше про цей матеріал повідомили у 1998 р. Stucky et al. [230], складається з аморфного кремнезему, що утворює циліндричні мезопори, розташовані в гексагональній структурі. Крім того, поєднання складу аморфного кремнезему та текстурних властивостей робить цей матеріал дуже хорошим кандидатом для застосування в медицині як біоматеріал. За даними Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA), діоксид кремнію був «в цілому визнаний безпечним» і особливо підходить як біоматеріал через його високу біосумісність, нетоксичність продуктів розкладання та регульовану здатність до гідролітичного розкладання в біологічних середовищах. Зокрема, частки аморфного кремнезему з часом розкладаються до нетоксичної ортокремнієвої кислоти $\text{Si}(\text{OH})_4$ та виводяться із сечею [55].

Отримані дані про біоактивні стекла вказують на те, що іонні продукти розчинення біостекол контролюють клітинний цикл клітин-попередників остеогенезу і мають остеогенні та ангіогенні властивості [56]. У цьому відношенні матеріал з великою площею поверхні та взаємопов'язаною мережею пір збільшує швидкість іонного обміну та розчинення, що призводить до вивільнення складових іонів у розчин. Золь-гель синтезоване скло в потрійній системі $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ продемонструвало цінну біоактивність [57]. З іншого боку, за аналогією з біоінспірованим морфогенезом костеподібних наночастинок гідроксиапатиту з використанням органічних темплат автори припускають використовувати мезопористий кремнезем для вирощування наночастинок апатиту CaP для досягнення високої площі поверхні біокераміки $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$. Ідея полягала в тому, щоб спочатку включити іони кальцію в

матрицю кремнезему як центри зародка утворення для закріплення і росту кристалів фосфату кальцію [58].

1.4. Методи підвищення біоактивності кісткових композитів

Остеоіндуктивність - це здатність активно індукувати (*de novo*) утворення кістки [59]. Остеокондуктивність – це властивість, що забезпечує колонізацію та вrostання нових кісткових клітин на поверхню. Остеокондукція в основному визначається хімічними та фізичними властивостями, які сприяють адгезії та росту клітин [60].

Алмазна концепція передбачає, що для досягнення безперешкодного загоєння перелому обов'язковими є чотири параметри: остеогенні клітини, остеокондуктивний каркас, фактори росту та стабільне механічне середовище. Пізніше додалася васкуляризація у місці дефекту як важливий чинник у процесі загоєння кісткової рани [61, 62].

Ідеальний матеріал кісткового трансплантата має відповідати цим критеріям. У зв'язку з цим різні синтетичні трансплантаційні матеріали вже були оцінені як каркаси для відновлення кістки, з яких біокераміка дуже приваблива. Ці біокераміки можна поділити на біоінертні (наприклад, оксид алюмінію або діоксид цирконію) та біоактивні/біорассмоктувальні. Біокераміка на основі фосфату кальцію (CaP), біокераміка на основі сульфату кальцію або біоактивні стекла на основі діоксиду кремнію є одними з найбільш вивчених біоактивних/біоросамних біокерамік. Хабракен та ін. [63] описали характеристики ідеального біокерамічного матеріалу для інженерії кісткової тканини наступним чином:

- 1 біорозкладний для ремоделювання кістки;
- 2 макропористі для забезпечення проростання тканин;
- 3 механічно стабільні та прості в обігу;
- 4 остеокондуктивних, щоб спрямовувати зростання кістки навколо та всередині матеріал;
- 5 підходить для використання як носій факторів росту або клітин.

Наявність пір у КФК сприяє його деградації. Пори сприятимуть потоку рідини (перфузії у разі взаємозалежної пористості), міграції та проліферації остеобластів у КФК, а також васкуляризації. Крім того, наявність пір покращить стабільність поверхні розділу тканина-імплантат, оскільки клітини будуть мати велику площу поверхні для проліферації та регенерації нової тканини. Пори в КФК можна класифікувати з урахуванням розміру їхнього часу, тобто. мікропори (внутрішня ширина пор <1 мкм), мезопори (внутрішня ширина пор 1-100 мкм) та макропори (внутрішня ширина пор >100 мкм) [64]. КФК мають внутрішню пористість через їх механізм затвердіння, коли відбувається зростання кристалів в голчасті або пластинчасті структури, які створюють мікропористу структуру [65]. Мікропористість КФК може досягати 60%, що збільшує площу їх поверхні, забезпечує надходження рідини до КФК та сприяє адсорбції білка [60]. Було показано, що мікропористість можна регулювати, регулюючи певні параметри обробки, такі як розмір частинок порошкової фази співвідношення Ca/P. Еспаньйол та ін. (2009) приготували цементи з різним відсотком відкритої пористості (35–55%), змінивши співвідношення рідини та порошку та використовуючи порошок α -ТСП двох різних розмірів (дрібний та великий; 2,8 та 5,2 мкм відповідно). Вони виявили, що реакційна здатність порошку збільшується зі зменшенням розміру частинок, що призводить до меншого розміру пор, ніж при використанні більшого розміру частинок. Крім того, при збереженні розміру частинок було помічено, що при низькому відношенні Ca/P розмір пор зменшується через зменшення простору між частинками суміші [98]. Мікропористість також залежить від температури спікання порошкової фази. Було показано, що матеріали CaP, спечені при 1200°C , демонструють значно меншу мікропористість, ніж матеріали, спечені при 1000°C , та значну зміну розміру кристалів [66]. Розмір часу, який зазвичай вважають достатнім для регенерації кістки, становить 100 мкм, оскільки пори меншого розміру можуть призвести до вrostання немінералізованої кісткової тканини або фіброзної тканини і перешкоджають вrostанню судин [67]. Проте було продемонстровано, що пори розміром понад

300 мкм у деяких випадках демонструють посилений остеогенез [68]. З іншого боку, є підтвердження, що пори розміром менше 100 мкм також сприяють утворенню кістки або вrostання в синтетичний матеріал [69, 70]. Іншим важливим параметром пористості КФК є так звана «зв'язність» пір. Цей параметр показує, наскільки пори, введені в КФК, з'єднуються один з одним. Пори можуть бути з'єднані між собою або містити «глухий кут». Як правило, КФК з високою взаємопов'язаністю мають перевагу перед тими, які містять тупикові пори. Причина цього в тому, що взаємозв'язок забезпечує ефективний шлях потоку рідини і, як наслідок, міграцію та розподіл клітин у КФК, а також сприяє формуванню кровоносних судин, необхідних для формування та ремоделювання нової кістки [71, 72, 73].

Як зазначалося раніше, деградація КФК обмежена, і це стримує їхнє клінічне використання. Відомо, що наявність макропористості посилює регенерацію кістки, а також сприяє деградації КФК. Тому виникає необхідність введення макропору у КФК. Цього можна досягти за допомогою піноутворювачів, методів швидкого прототипування або запровадження пороутворювачів. Однак важливо відзначити, що хоча збільшення макропористості має вирішальне значення для регенерації кістки, макропористість одночасно призводить до зниження механічних властивостей і, як правило, зміни її маніпуляційних властивостей. Отже, це слід враховувати при проектуванні макропористого КФК, щоб отримати компроміс між макропористістю (і, отже, регенерацією кістки) та іншими важливими властивостями матеріалу.

Одним із можливих способів надання КФК макропористості є спінювання, яке зазвичай досягається за рахунок газоутворення в результаті хімічної реакції. Була розроблена методика введення кисневих макропорів у цементне тісто α -ТСР шляхом впливу низької температури на перекис водню з метою її розкладання на воду та кисень. Вони отримали високу пористість (до 66%), контролюючи різні параметри обробки, такі як співвідношення Са/Р та концентрацію розчину перекису водню [74]. Реал та ін використовували

кислотну реакцію між NaH_2PO_4 і NaHCO_3 для утворення бульбашок CO_2 в КФК. За допомогою цього методу було досягнуто пористості до 50% [60].

Швидка васкуляризація імплантатів, яка може покращити інтеграцію імплантату з м'якими тканинами господаря та знизити ризик ускладнень, є одним із критичних факторів для успішних клінічних результатів. У міру того, як фіброваскулярна тканина проростає в макропори пористого імплантату, м'які тканини можуть бути механічно зафіксовані на імплантаті, тим самим зменшуючи міграцію та оголення імплантату [75]. Водночас рясні кровоносні судини забезпечують імунну підтримку, що сприяє загоєнню ран та знижує ризик післяопераційних інфекцій [76]. Згідно з довгостроковими клінічними результатами, імплантати з коралінового гідроксиапатиту з пористістю 80 % досягли дуже швидкої швидкості васкуляризації, за ними слідує імплантати із синтетичного гідроксиапатиту (пористість 50–65 %) і, нарешті, імплантати Medpor (пористість ~ 41 %) [77].

Пориста структура полегшує міграцію та зростання клітин, а також транспорт поживних речовин та метаболітів, стимулюючи інтеграцію кістки та реваскуляризацію. З іншого боку, деякі каркаси також можуть вивільняти біологічно активні іони, тим самим сприяючи фізіологічній стимуляції клітин. [24, 78-82.]

Комбінація з полімерними розчинами та добавками, такими як лимонна кислота, була досліджена для покращення когезивності та ін'єкційності кальційфосфатних керамік (КФК) [83-86]. Як природні, так і синтетичні полімери були включені як рідка фаза в ін'єкційний КФК, щоб підтримувати хороше зчеплення та ін'єкційність, але в той же час зберігаючи адекватний час захоплення та механічні властивості [87; 88]. Хітозан, амінополісахарид, використовувався як природна добавка до рідкої фази для зміни таких фізичних властивостей КФК, як ін'єкційність, час захоплення та реологія, а також для підвищення біоактивності *in vivo* [89]. Альгінат натрію, колаген, желатин, гіалуронова кислота та похідні целюлози (гідроксипропілметилцелюлоза (ГПМЦ), метилцелюлоза (МС) та карбоксиметилцелюлоза (КМЦ) [, також

використовувалися як рідка фаза для утворення КФК [83; 90-96]. Як правило, поєднання з біополімерами дозволяє регулювати не тільки когезійну здатність та ін'єкційну здатність одержуваного цементу, але й покращувати механічні властивості та ступінь біоактивності КФК. Мікрочастинки полі(молочно-гліколевої кислоти) (PLGA), включені в КФК, виявляли утворення макропор *in situ* і призводили до підвищення міцності цементу, що було необхідно для реконструкції кістки [97].

Крім того, в літературі повідомлялося про інші спроби, такі як додавання гліцерину, карбонату стронцію, поліетиленгліколю, піноутворювача та силікату β -дикальція, для регулювання фізико-хімічних та біологічних властивостей КФК [83; 98; 99; 100; 101].

Вплив КФК на регенерацію та зростання кісткової тканини в каркаси вивчався у багатьох дослідженнях, визначаючи повільну або швидку резорбцію КФК як проблемні моменти [83; 100]. У той час як повільна швидкість резорбції призводить до пригнічення остеоінтеграції, швидка швидкість резорбції може призвести до вимивання деяких фракцій КФК з місця дефекту [101; 102]. Для уповільнення швидкої швидкості резорбції було запропоновано комбінації різних СаР (наприклад, швидкість резорбції трикальційфосфату (ТКФ) можна контролювати за допомогою двофазних цементів СаР [24].

У кістковій інженерії тканинні каркаси, здебільшого виготовлені з полімерних матеріалів, забезпечують структурну підтримку для прикріплення стовбурових клітин та подальшого розвитку тканин. Крім використання клітин-попередників, успіх тканинної інженерії значною мірою залежить від вивчення та оптимізації тканинних каркасів [73]. У регенеративній стоматології було розроблено кілька видів біорозкладних каркасів у вигляді пористих матриць для утримання регенеративних недиференційованих клітин при відтворенні їх біологічного мікрооточення, щоб полегшити недиференційованим преостеобластним і одонтобластним клітинам диференціювання, відкладення та мінералізацію [103]. Крім біосумісності, ідеальний тканинний каркас повинен

також володіти контрольованою біорозкладальністю та придатністю для маніпуляцій [104].

Крім того, процес регенерації кісток може бути додатково посилений додаванням біоактивних молекул, що впливають на клітинні функції та регенерацію тканин [105; 106].

1.5 Морфологічні аспекти ремоделювання кісткового трансплантату

Формування нової кістки під впливом трансплантатів є ключовою метою синусліфтингу та може реалізуватися за рахунок остеогенезу, остеоіндукції та остеокондукції. Остеогенез відбувається в ауто трансплантатах за рахунок надання каркасу, факторів росту для остеогенезу та клітин, які виробляють матрикс кістки. Механізм остеоіндукції характерний для аутогенної кістки, аlogenної кістки та ксенотрансплантатів, і передбачає диференціювання остеогенних клітин у відповідь на остеоіндуктори - морфогенетичні білки кістки (BMP) або інші фактори росту. В основі механізму остеокондукції (остеопровідності), що передбачає використання тривимірних біологічних скафолдів, лежить утворення нової кістки поверх трансплантату, при цьому графт може піддаватися реваскуляризації та інкорпорації у нову кісткову тканину [107; 108].

Безумовну перевагу має використання у складі біоматеріалів остеоіндуктивних та остеопромуючих факторів. Остеоіндуктивні речовини стимулюють остеогенне диференціювання клітин-попередниць. Найбільш потужним остеоіндукторами є морфогенетичний білок кістки 2 (BMP-2) і BMP-7, залучені до індукції остеогенезу та регенерації кістки [109-111]. Біологічно активні речовини, що посилюють формування нової кістки, називають остеопромоторами. До них відносяться фактор росту тромбоцитарного походження, (PDGF), TGF β 1, інсуліноподібний фактор росту-1, фактор росту судинного ендотелію і фактор росту фібробластів [112-114]. Всі ці фактори продемонстрували чіткий остеопромуючий ефект у до-клінічних дослідженнях [114]. Паралельно проводиться розробка різних варіантів

алогенної, ксеногенної та наноскафолдів [3; 74] для імплементації в періодонтології. Так, наприклад останнім часом широко розповсюджені комплекси різних полімерів з гідроксиапатитом. По своїй суті, кісткова тканина є нанокомпозитом, що складається з органічної та неорганічної матриці, в якій колагеновий компонент і мінеральна фаза організовані в складні пористі структури. Не дивно, що гідроксиапатит став найбільш використовуваним керамічним біоматеріалом, оскільки він імітує мінеральний склад кістки хребетних [80; 115; 116]. Однак цей біоміметичний матеріал має погані механічні властивості, такі як низька міцність щодо розтягу і тиску, що робить його непридатним для інженерії кісткової тканини. Тому гідроксиапатит часто використовують у поєднанні з різними полімерами та зшиваючими речовинами у формі композитів для покращення їх механічних властивостей і загальної ефективності імплантованих біоматеріалів. Низка досліджень *in vitro* та *in vivo* із залученням тваринних моделей показала, що біокомпозити гідроксиапатиту загалом є біосумісними, проте результати клінічних досліджень на людях є дещо суперечливими, що стимулює до подальшого вивчення питання [49; 117; 118].

Клінічне застосування будь-яких біологічних матеріалів потребує дотримання ключових вимог до біологічних матеріалів та доказів їх безпеки та ефективності. До обов'язкових вимог щодо використання біологічних матеріалів з кісткової тканини відноситься низка факторів [119; 120]: По-перше, скафолди мають бути тривимірними і мати достатню площу поверхні для взаємодії з клітинами та тканинами в зоні використання. По-друге, матеріал має бути пористим та мати з'єднання між порами. Ця вимога є передумовою для забезпечення клітинної адгезії, міграції та проліферації кісткових клітин у відповідному напрямку. Ефективна адгезія клітин до біоматеріалу та структурна анізотропія впливає й на подальшу орієнтацію клітин та взаємодію клітини-матрикс. По-третє біоматеріал (БМ) має бути нетоксичним та піддаватися біодеградації. Але при цьому зразки БМ мають бути міцними, і ці характеристики мають бути порівняними з міцністю кортикальної кістки.

Особливі переваги мають біологічні матеріали, що можуть утримувати фактори росту, антибактеріальні компоненти, біоактивні молекули. За цих умов реалізується біостимулюючий ефект. У разі застосування скафолдів з кісткової тканини ключову роль відіграє підтримання балансу між диференціюванням остеогенних клітин з формуванням остеобластів та формуванням/активністю остеокластів.

Проте окремої уваги заслуговують питання імуногенності біоматеріалів. Незалежно від специфіки використаного для аугментації кісткових трансплантатів, їх імплантатія супроводжується імунологічною відповіддю на чужорідні субстанції. Показано, що незважаючи на ретельну обробку, алогенна кістка зберігає потенційну антигенність, що індукує опосередковану Т-клітинами імунну відповідь проти алотрансплантата [27; 27; 31; 121]. Це пов'язане з присутністю молекул основного комплексу гістосумісності (МНС) в алогенних кісткових блоках. Важливо, що реакція імунної системи на кісткові трансплантати є комплексною, і передбачає участь клітин як вродженого, так і специфічного (адаптивного) імунітету. Запуск імунної реакції зумовлений детекцією імунологічно чужорідного матеріалу дендритними клітинами. Вони відіграють важливу роль у розпізнаванні чужорідного матеріалу та запуску як адаптивної імунної відповіді (АПК), так і толерантності до БМ [31; 32; 122]. Ці спеціалізовані АПК модулюють взаємодію між біоматеріалом та організмом людини. Активовані протягом підготовчих маніпуляцій, дендритні клітини (ДК) залучаються до розпізнавання та процесингу антигенів чужорідного БМ з подальшим приміюванням $CD4^+$ та $CD8^+$ Т клітин, та стимуляцією їх проліферації та диференціювання в реактивні ефektorні клітини [27; 123]. Проте аналіз участі ДК у реалізації імунної відповіді на БМ обмежений ускладнений варіабельністю субтипів зрілих та незрілих ДК. Більш того, оцінка ефektorної ланки імунної відповіді – наприклад Т-цитотоксичних лімфоцитів дозволяє отримати інформацію щодо виразності імунної реакції.

Важливо підкреслити, що імунні клітини забезпечують не тільки запальну відповідь на чужорідний матеріал. Існує тісний взаємозв'язок між метаболізмом

кісткової тканини та імунною системою. Активовані Т-клітини можуть впливати на резорбцію кісткової тканини та остеогенез через дію інтерферону- γ (IFN- γ) або інтерлейкіну 17 (IL-17) [14; 124]. Важливу роль також відіграє RANKL який зв'язується з рецептором активатора ядерного фактору каппа- β (RANK) на попередниках остеокластів та індукує остеокластогенез з наступною резорбцією кісткової тканини [5; 14; 125].

Окрім Т- лімфоцитів, важливу роль відіграють й макрофаги, що мають вирішальне значення для кісткового метаболізму та ремоделювання кісткової тканини [25; 27; 126]. Макрофаги представляють собою численну популяцію імунних клітин, представлених у різних тканинах та органах. Традиційно макрофаги швидко залучаються до пошкоджених ділянок або зон інфікування, де вони відіграють критичну роль у вродженому імунітеті [26; 27; 127]. Крім того, макрофаги регулюють гомеостаз тканин та реалізацію різних патофізіологічних процесів, включаючи вроджений і адаптивний імунітет, регенерацію, ангіогенез та канцерогенез [128]. При цьому макрофаги не тільки ініціюють запалення тканин, але також сприяють репарації та ремоделюванню тканин [129; 130]. В кістковій тканині макрофаги є невід'ємним компонентом процесу ремоделювання кістки, оскільки координують зв'язок між остеокластами і остеобластами, а також стимулюють анаболічні процеси критичні для формування кісток [25; 27; 131].

Загально прийнято вважати, що макрофаги представляють спектр активованих фенотипів, а не дискретні стабільні субпопуляції. Дійсно, численні дослідження задокументували гнучкість їхнього програмування, коли макрофаги перемикаються з одного функціонального фенотипу на інший у відповідь на змінні сигнали мікросередовища місцевого середовища [145-147; 196]. Схематично Макрофаги класифікуються на два підтипи: класично активовані прозапальні (M1-макрофаги) та альтернативно активовані протизапальні/регенеративні (M2-макрофаги) [132].

За фізіологічних умов більшість макрофагів демонструють фенотип M2, який допомагає підтримувати тканинний гомеостаз [25; 132]. Як резидентні M2,

так і запальні M1-макрофаги можуть впливати на формування кісток. Остеокласти традиційно розглядаються як резидентні макрофаги в кістці. В останні роки була ідентифікована велика популяція макрофагів, які постійно проживають у кістках. Ці макрофаги називаються остеомаками, що можуть забезпечувати проанаболічну підтримку остеобластів і сприяти формуванню кістки [25; 27].

В контексті імплантаційних процедур, макрофаги опосередковують як репаративні процеси, так і запальну відповідь на імплантовані біоматеріали [133]. Імпланти з біоматеріалів індукують поляризацію макрофагів M1, що призводить до запальної реакції на стороннє тіло, утворення гранульом [3; 134]. Як і резидентні макрофаги, запальні макрофаги також мають здатність впливати на формування кісток. Класично активовані макрофаги M1 можуть продукувати онкостатин M, який сприяє остеогенезу та мінералізації мезенхімальних стовбурових клітин (MSC) *in vitro* [135]. Однак показали роль також і M2-макрофагів у цьому процесі. Подальші дослідження підтвердили думку про те, що альтернативно активовані макрофаги залишаються потужними індукторами утворення остеобластів [27; 136].

З іншого боку, M1-макрофаги сприяють очищенню від клітинного детриту у зоні ушкодження та виробляють низку цитокінів, включаючи TNF- α , IL-1 β , IL-6 та C-C хемокін-ліганд 2. TNF- α бере участь у рекрутуванні клітин та індукції вторинної запальної сигналізації [80]. IL-1 β що виробляється макрофагами, може сприяти ангиогенезу, та може індукувати продукцію IL-6, який залучений до рекрутування мезенхімальних стовбурових клітин до місця пошкодження, стимуляції ангиогенезу і диференціювання остеобластів та остеокластів [80; 137; 138]. Макрофаги можуть також посилювати остеогенез за рахунок продукції цитокінів, таких як BMP-2, кістковий морфогенетичний білок 4, онкостатин і TGF- β 1 [7; 23]. Онкостатин є цитокіном сімейства IL-6, що індукує остеогенну диференціацію MSC *in vitro* [139]. На початковій стадії запалення макрофаги виробляють велику кількість онкостатину M, який сприяє прямому остеогенезу. Натомість, виснаження макрофагів призводить до

зниження онкостатину M, колагену типу 1 і мінералізації кісток [140]. M2-Макрофаги також можуть регулювати репаративні процеси через продукцію матриксних металопротеїназ (ММР) і ТІМП, які контролюють динаміку позаклітинного матриксу. Крім того, макрофаги виділяють специфічні хемокіни, які рекрутують фібробласти, ТН2 клітини та регуляторні Т (Treg) клітини. Отже, при стимуляції макрофаги диференціюються залежно від контексту у різні фенотипи, які або сприяють, або пригнічують запалення та репаративні процеси [25; 27; 31].

Механізми впливу різних біоматеріалів на інтеграцію, ремоделювання та імунологічну реакцію після процедури аугментації досі є предметом активних досліджень. Лише незначна кількість робіт надають фактичну інформацію щодо реакції тканин парадонту та специфіку структурного складу в зоні аугментації синусів за допомогою алогенних біоматеріалів. Гістологічна оцінка відповіді на загоєння кістки після трансплантації різних видів кісткового біоматеріалу в організм людини полегшить використання хірургом матеріалу кісткового трансплантата та дозволить встановити період загоєння імплантату відповідно до клінічної ситуації пацієнта. А оцінка реакції імунних, ангіогенних та остеогенних клітин на застосований Нанографт дозволить розшифрувати механізми морфогенетичних ефектів кісткового біоматеріалу.

Складний баланс між збереженням матриксу та його резорбцією контролює метаболізм скелетної системи. Баланс між остеобластичною та остеокластичною функціями підтримує скелетну функцію [23].

Завдання дослідників і клініцистів, на сьогоднішній день, полягає у пошуку рішень, які б максимально задовольняли переліченим вище вимогам, враховували особливості матеріалів з метою підтримки та стимуляції природних факторів остеогенезу у заданих ділянках та напрямках з максимально прогнозованим результатом.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Контингенти дослідження

Вивчення клінічної ефективності *нового кісткового композиту з гідроксиапатиту-трикальційфосфату* було проведено в межах проспективного контрольованого лонгітудинального дослідження, яке передбачало ретельний моніторинг змін у пацієнтів протягом визначеного періоду часу. Дослідження здійснювалося у суворій відповідності до протоколу, затвердженого комісією з біоетики, що відповідає міжнародним нормам етичного супроводу клінічних випробувань згідно з Декларацією Гельсінкі (World Medical Association, 2013).

У дослідженні взяли участь 22 (100 %) пацієнта віком від 39 до 75 років, які проходили комплексну стоматологічну реабілітацію з приводу вторинної часткової адентії із застосуванням методів дентальної імплантації. Усі пацієнти потребували проведення субантральної аугментації в ділянці верхньощелепного синусу для створення необхідного об'єму кісткової тканини.

Критерієм включення були відсутність внутріопераційних та післяопераційних ускладнень, що могло мати вплив на результат лікування, під час проведення субантральної аугментації нового графту, відсутність загальносоматичних захворювань, що могли б вплинути на остеогенез або загоєння тканин; відсутність системного прийому антибіотиків протягом щонайменше трьох місяців до моменту включення у дослідження; наявність підписаної інформованої згоди на участь у дослідженні. У 2 (9,1 %) пацієнтів під час відшаровування мембрани Шнайдера була її точкова перфорація; ізоляцію зони аугментації від синусу проводили резорбованою мембраною з аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (APRF).

Хірургічне втручання у рамках дослідження проводили двічі: першим втручанням була аугментація графту, другим – забір біоптату.

Субантрална аугментації нового кісткового композиту з гідроксиапатит-трикальційфсфату. Оперативне втручання — відкритий синусліфтинг — проводилося за стандартною протоколізованою методикою. Премедикація включала застосування анальгетиків та гемостатиків (Кетанов, Діцинон), що дозволяло ефективно контролювати больовий синдром і запобігати розвитку інтраопераційних кровотеч. Під місцевою інфільтраційною анестезією (Артікаїн, концентрація 4% з адреналіном 1:100000) формували повношаровий слизистонадкістковий клапоть у проєкції передньої стінки гайморової пазухи. Після скелетування стінки круглим бором з рясною іригацією фізіологічним розчином обережно видаляли кортикальний шар кістки до оголення інтактної мембрани Шнейдера.

Мембрану відшаровували від дна синуса та бічної стінки за допомогою спеціалізованих елеваторів для синусліфтингу, уникаючи її перфорації. Підйом мембрани проводили на висоту, що забезпечувала створення адекватного об'єму для розміщення трансплантаційного матеріалу без утворення надлишкового тиску, що могло б порушити локальну гемодинаміку або спричинити ішемічні зміни тканин. Таким чином забезпечували безпечне середовище для подальшого проростання судин і формування кісткової тканини. Отриманий простір ретельно заповнювали кістковим графтом, змоченим у розчині антибіотика (Діоксидин) та антисептика (Хлоргексидину біглюконат 0,05%). Використання антимікробних засобів відповідало сучасним принципам профілактики інфекційних ускладнень у дентальній імплантології [97]. Графт рівномірно розподіляли по всій площі імплантації, із застосуванням зусилля до 150 г/см². Відомо, що надмірна конденсація трансплантата знижує його пористість і ускладнює проростання судин, що в кінцевому результаті може зменшити об'єм і якість новоутвореної кістки [1]. Контроль цілісності мембрани Шнейдера здійснювався шляхом тесту на симптом наповнення порожнини фізіологічним розчином, а також шляхом оцінки ступеня

васкуляризації реципієнтної зони за швидкістю просочування крові в графт. Це дозволяло непрямим оцінити стан ангиогенезу в зоні імплантації, що є ключовим для ефективного формування кісткової тканини.

Отвір у передній стінці синуса закривали резорбованою мембраною з аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (APRF), або полілактидною мембраною (PLA). Використання бар'єрних мембран дозволяло створити герметичне середовище, сприятливе для процесів остеогенезу, і запобігало міграції часток графта в навколишні тканини. Слизистонадкістковий клапоть після закриття фіксували первинним натягом швами із застосуванням атравматичного шовного матеріалу. Після операції призначалася стандартна антибактеріальна та протизапальна терапія, яка включала застосування амоксициліну з клавулановою кислотою, а також нестероїдних протизапальних препаратів для контролю запальної реакції. Зняття швів проводили на 10-й день після операції відповідно до прийнятих стандартів лікування післяопераційних ран. У всіх клінічних випадках не спостерігалось післяопераційних ускладнень, що свідчило про правильність обраної методики оперативного втручання та високу біосумісність використаних матеріалів.

Забір біоптату. Другий хірургічний доступ до зони аугментації здійснювався під час встановлення імплантатів шляхом латерального або трансальвеолярного підходу відповідно до клінічної ситуації.

2.2 Матеріали дослідження

Через неможливість осадити безпосередньо трикальційфосфат (ТКФ) з водних розчинів, необхідно додання β -трикальційфосфатної групи, яку можна отримати або нагріванням кальційдефіцитного апатиту вище 800 °C, або за допомогою твердофазних реакцій. При температурах вище 1125 °C β -ТКФ перетворюється у високотемпературну фазу, відому як α -ТКФ. Хоча обидві сполуки мають однаковий хімічний склад, вони відрізняються своїми кристалічними структурами.

Новий гідроксиапатит-трикальційфосфатний (ГА-ТКФ) композитний матеріал був отриманий *методом мокрого осадження*. Синтез проводився під контролем перемішування, швидкості додавання, рН та температури за такою реакцією: $9\text{CaCl}_2 + 5\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 13\text{NaOH} + \text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_9\text{Na}(\text{PO}_4)_5(\text{CO}_3)(\text{OH})_2 + 18\text{NaCl} + 11\text{H}_2\text{O}$

Окремо було приготовано два різні розчини. Розчин-1 – розчин CaCl_2 (0,09 М), був приготований шляхом розчинення відповідної кількості CaCl_2 у дистильованій воді. Розчин нагрівали при перемішуванні до 80 °С. Бікарбонат натрію (NaHCO_3) був застосований у кількості 0,01 М як реагент для введення CO_3^{2-} груп. Розчин-2 – розчин NaH_2PO_4 (0,05 М), додавали краплями до розчину-1 для отримання гідроксиапатиту з дефіцитом кальцію при перемішуванні та нагріванні до 80°C протягом 2 годин. Під час синтезу рН реакційного середовища стабілізували на рівні >11 за допомогою розчину гідроксиду натрію. Через 2 години рН знижували до 9; отриману суспензію витримували протягом 24 годин при кімнатній температурі. Верхній розчин видаляли декантацією. Отриманий осад тричі промивали деіонізованою водою, доки рН розчину не досяг 7, а потім використовували як суспензію гідроксиапатиту. Останню з дефіцитом кальцію змішували з 3% водним розчином альгінату натрію у співвідношенні 3:1. Отриману суміш додавали краплями до 0,1 М розчину CaCl_2 для отримання гранул ГА в альгінатній оболонці. Їх заморожували при -80°C протягом ночі, а потім сушили при 60 °С. Отримані зразки прожарювали при температурі 900°C для отримання суміші гідроксиапатиту та β-ТКФ та видалення органічної фази. Висушені зразки подрібнювали на дрібний порошок та використовували для характеристичних досліджень.

2.2.1 Морфологічні характеристики нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного кісткового композиту

Морфологічний аналіз новго гідроксиапатиту за допомогою скануючої електронної мікроскопії (SEO-SEM Inspect S50-B) у поєднанні з

енергодисперсійним спектрометром AZtecOne, оснащеним детектором X-MaxN20 виробництва Oxford Instruments plc. дозволило здійснювати високоточне зображення поверхні зразків та проводити елементний аналіз у мікро- та наномасштабі. Використання такої комбінації обладнання забезпечило отримання зображень із високою просторовою роздільною здатністю, що дозволило детально оцінити морфологічні особливості синтезованого гідроксиapatиту, включаючи розміри кристалітів, ступінь агрегації та особливості пористості матеріалу. Енергодисперсійна спектроскопія (EDS) була використана для підтвердження хімічного складу зразків, особливо виявлення співвідношення кальцію та фосфору, що є критичним для оцінки якості гідроксиapatиту, оскільки їхній молярний відношення повинно наближатися до теоретичного значення 1,67 для стехіометричного гідроксиapatиту.

2.2.3 Характеристики гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту, отримані шляхом рентгенівської дифракції

Рентгеноструктурний аналіз здійснювали за допомогою дифрактометра ДРОН-3М (виробництво – Буревісник, <https://bourestnik.com>), який був інтегрований з автоматизованою системою збору та обробки даних DifWin-1 (Еталон-ТЦ). Випромінювання $\text{CuK}\alpha$ (довжина хвилі 0,154 нм) використовувалося у класичній геометрії Бреґга-Брентано, що є стандартним методом для дослідження полі- та монокристалічних матеріалів. Робочі параметри рентгенівської трубки були встановлені на рівні 20 мА та 40 кВ для забезпечення стабільного інтенсивного потоку рентгенівських променів.

Сканування здійснювали у режимі безперервної реєстрації з кроком $0,02^\circ$ та швидкістю $1^\circ/\text{хв}$ у діапазоні кутів від 20° до 80° , що дозволяло детально аналізувати кристалічну структуру зразків. Отримані дифрактограми були інтерпретовані шляхом порівняння з еталонними даними з каталогу JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards), що дозволило визначити

фазовий склад, ступінь кристалізації та наявність можливих домішкових фаз у синтезованому гідроксиапатиті.

2.3 Методи дослідження

Власні дослідження було проведено лабораторними та клінічними методами.

2.3.1 Лабораторні методи дослідження

- Метод інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії нового кісткового композиту. Ідентифікація структурних компонентів молекул здійснювалася методом інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є (FTIR), що є високочутливим методом для визначення функціональних груп у складі матеріалів. Для цього використовували спектрометр ThermoNicolet Nexus 470 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), обладнаний адаптером для атенюованого повного внутрішнього відбиття (ATR), що дозволяє мінімізувати потребу у спеціальній підготовці зразків. Спектри зразків записували в широкому діапазоні хвильових чисел від 550 до 4000 cm^{-1} із роздільною здатністю 4 cm^{-1} і сумарно 32 сканами на одне вимірювання для покращення співвідношення сигнал/шум. Перед вимірюванням усі зразки були висушені з метою усунення впливу вологи на результати аналізу. Аналіз ІЧ-спектрів дозволяв визначити наявність характерних груп, таких як фосфатні (PO_4^{3-}), гідроксильні (OH^-) та карбонатні (CO_3^{2-}) фрагменти, що мають критичне значення для оцінки структурної організації отриманого гідроксиапатиту.

Для оцінки біосумісності синтезованого ГА були використані первинні остеобласти четвертого пасажу, отримані з колекції Центру біомедичних досліджень. Первинні остеобласти є золотим стандартом для аналізу взаємодії матеріалів із кістковими клітинами завдяки своїй збереженій фенотипічній стабільності та здатності до диференціації у напрямку остеогенезу. Клітини

культивували в модифікованому середовищі Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12, Gibco, США), яке містило 10% фетальної бичачої сироватки для підтримки проліферативної активності, 100 одиниць/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину для запобігання бактеріальній контамінації, а також 2,5 мкг/мл амфотерицину В для пригнічення розвитку грибкових інфекцій. Культивування здійснювали при температурі 37 °С в атмосфері, збагаченій 5% CO₂, що оптимально імітує фізіологічні умови організму людини.

На дно кожної лунки 96-лункового планшета наносили 100 мг порошку синтезованого матеріалу. Поверх матеріалу висівали остеобласти у щільності 4×10^4 клітин/см², що забезпечує рівномірне покриття зразків клітинами для подальшого аналізу їх життєздатності та проліферативної активності. Біосумісність матеріалу оцінювали за допомогою тесту на відновлення резазурину, який є чутливим індикатором метаболічної активності клітин. На 1-й, 3-й, 5-й і 7-й день культивування до кожної лунки додавали резазурин у кінцевій концентрації 15 мкг/мл і інкубували протягом 8 годин. Сто мікролітрів середовища потім переносили у новий 96-лунковий планшет для вимірювання оптичної густини за допомогою планшетного рідера Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при довжинах хвиль 570 і 595 нм. Оцінку життєздатності клітин проводили відповідно до методики "Method for Measuring Cytotoxicity or Proliferation Using AlamarBlue by Spectrophotometry" (Bio-Rad Laboratories), що базується на співвідношенні поглинання світла на вказаних довжинах хвиль.

Для візуалізації ядер клітин та якісної оцінки адгезії/розподілу остеобластів на поверхні синтезованого гідроксиапатиту на завершальному етапі експерименту (7-а доба культивування) проводили флуоресцентне забарвлення DAPI. Після закінчення інкубації зразки двічі промивали фосфатно-сольовим буфером (PBS) для видалення залишків поживного середовища та невідповідно адсорбованих клітин. Далі зразки інкубували протягом 2 хвилин у розчині 4',6-діамідино-2'-фенілндол дигідрохлориду

(DAPI, Roche) у PBS у розведенні 1:35 000. Після забарвлення зразки аналізували за допомогою флуоресцентного мікроскопа Axio Imager A1 (Carl Zeiss) у каналі DAPI.

- Метод фарбування барвником Sirius Red нового кісткового композиту. Для вивчення синтезу позаклітинного матриксу, а саме колагену I типу, який є основним білком кісткової тканини, застосовували фарбування барвником Sirius Red. Остеобласти висівали на поверхню ГА-матеріалу у щільності 10^4 клітин на лунку. На 7-й та 14-й день інкубації зразки переносили у 24-лункові планшети та тричі промивали охолодженим фосфатно-сольовим буфером (PBS, 4 °C) для видалення залишків культурального середовища та неклітинних домішок. Фіксацію клітин проводили шляхом інкубації у розчині Буена протягом 1 години при кімнатній температурі, що дозволяє зберегти структуру білкових матриксів. Після висушування у витяжній шафі зразки фарбували розчином Sirius Red протягом 1 години, що забезпечує специфічне забарвлення колагенових волокон. Надлишок барвника видаляли багаторазовим промиванням 0,01 М розчином HCl. Для кількісного визначення зв'язаного барвника додавали 0,1 М розчин NaOH і проводили елюювання протягом 30 хвилин на шейкері. Абсорбцію елюйованого барвника вимірювали за допомогою Multiskan FC при довжині хвилі 570 нм. Отримані дані дозволяли кількісно оцінити рівень синтезованого остеобластами колагену, що є критичним маркером остеогенної активності.

- Тест згортання цільної венозної крові при контакті з новим кістковим композитом. Для дослідження кровоспинних властивостей синтезованого гідроксиапатиту проводили тест згортання цільної венозної крові. Зразки матеріалу масою по 4,0 г розміщували у шість чашок Петрі діаметром 6 см. Додатково підготували шість контрольних чашок без досліджуваного матеріалу для визначення базового часу згортання. Шістдесят мілілітрів венозної крові було отримано від здорового добровольця після отримання інформованої згоди відповідно до норм етичних стандартів, узгоджених із Етичним комітетом медичних досліджень Медичного інституту

СумДУ. У кожену чашку вносили по 5 мл крові одразу після забору. Після внесення крові зразки гідроксиапатиту легенько перемішували стерильною скляною паличкою для забезпечення рівномірного контакту. Відлік часу згортання розпочинали негайно після додавання крові та зупиняли після формування стійкого згустку.

Зразки зі згорнутою кров'ю масою близько 0,5 г готували для скануючої електронної мікроскопії (SEM) шляхом фіксації у 2,5% розчині глутарового альдегіду. Подальше зневоднення здійснювали шляхом інкубації у розчинах етанолу із зростаючою концентрацією (30%, 50%, 70%, 90%, 96%) протягом доби. Після дегідратації зразки сушили при кімнатній температурі та покривали шаром срібла товщиною 30–50 нм у вакуумній установці ВУП-5М (SELMI, Україна), що забезпечує достатню електропровідність для проведення досліджень під електронним мікроскопом. Спостереження морфології кров'яних згустків на поверхні гідроксиапатиту здійснювали за допомогою скануючого електронного мікроскопа FEI Inspect S50B (FEI, Чехія) із використанням детектора вторинних електронів Everhart–Thornley, що дозволяє отримати високу роздільну здатність зображень структури біоматеріалу та його взаємодії з біологічними компонентами крові.

- Гістологічне дослідження новоутвореної кістки. Для оцінки якості регенеративних процесів у зоні аугментації проводили забір кісткового матеріалу із зони аугментації за допомогою імплантаційних фрез під час формування імплантаційного ложа. Отриманий біопсійний матеріал фіксували у 10% розчині забуференого нейтрального формаліну протягом 48–72 годин, після чого проводили декальцинацію матеріалу з використанням швидкого декальцифікатора Kaltek (Italy). Такий протокол фіксації та декальцинації дозволяв зберегти морфологічну цілісність тканин для подальшого аналізу.

Після декальцинації провідку біоматеріалу (дегідратацію та просочування парафіном) здійснювали автоматизованим методом відповідно до стандартного протоколу у гістопроекторах (Milestone LOGOS Microwave Hybrid Tissue Processor, Milestone, Italy). Це забезпечувало високу якість

гістологічних препаратів з мінімальною деформацією тканинних структур. Після проводки робили заливку матеріалу у парафін (Paraplast) з виготовленням парафінових блоків на станціях заливки Thermo Scientific HistoStar (Thermo Fisher Scientific, USA). Парафінові блоки є стандартним матеріалом для виготовлення тонких гістологічних зрізів. Гістологічні зрізи товщиною 4 мкм виготовляли на напівавтоматизованому ротаційному мікротомі Thermo Scientific HM 340E. Така товщина зрізів оптимальна для дослідження детальної архітекtonіки тканин під світловим мікроскопом. Препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином з використанням автоматизованого коверстейнера Dako CoverStainer (Agilent, USA). Гематоксилін-еозинове фарбування дозволяє оцінити основні гістологічні характеристики тканини. Гістохімічне забарвлення толуїдиновим синім проводили мануально за стандартним протоколом. Толуїдиновий синій дозволяє виявити метакроматичні структури, що важливо для оцінки стану сполучної тканини.

Гістологічне дослідження препаратів проводили з використанням світлового мікроскопу Leica на трьох гістологічних препаратах серійних зрізів. Така методика дозволяє отримати об'єктивну картину процесів регенерації кісткової тканини.

Під час морфологічного дослідження проводили оцінку структури фрагментів нової кістки у зоні аугментації, будову кісткової тканини та оточуючої сполучної тканини, динаміку процесу резорбції та формування нової кістки в ділянках синусліфтингу за допомогою ГА-ТКФ. Особливу увагу приділяли співвідношенню зрілої кістки, залишків графта та сполучної тканини як маркерів успішності остеогенезу.

Крім того, враховували наявність, виразність та характер запальної реакції на біоматеріал. Наявність вираженого запалення вказує на можливі ускладнення у процесі остеointegraції. Для об'єктивізації процесу ремоделювання кістки та остеогенезу, а також оцінки виразності запальної або імунної реакції проводили гістоморфометричне дослідження. Цей підхід дозволяє кількісно оцінити репаративні процеси в тканинах. Дослідження

гістологічних препаратів проводилося з використанням параметрів оцінки критеріїв репарації та ремоделювання кістки. Оцінювали обсяг кісткових трабекул, залишків графта, а також сполучної тканини в одиниці об'єму. З цією метою в межах кожного слайду було проведено визначення частки простору (питомий обсяг), заповненого кістковими трабекулами, графтом та сполучною тканиною.

Оцінювали товщину кісткових трабекул. Оцінку проводили у трьох препаратах серійних зрізів. Зрізи аналізували за допомогою світлового мікроскопа (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Німеччина) принаймні в трьох репрезентативних областях кожного з трьох гістологічних препаратів аугментатів дна синусів при великому збільшенні.

Дослідження гістологічних препаратів проводилося з використанням параметрів оцінки критеріїв репарації та ремоделювання кістки. З цією метою в межах кожного слайду було проведено визначення частки простору (питомий обсяг), заповненого кістковими трабекулами, графтом та сполучною тканиною. Крім того, оцінювали товщину кісткових трабекул. Оцінку проводили у трьох препаратах серійних зрізів. Зрізи аналізували за допомогою світлового мікроскопа (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Німеччина) принаймні в трьох репрезентативних областях кожного з трьох гістологічних препаратів аугментатів дна синусів при великому збільшенні.

Наступним кроком була оцінка ефективності остеогенезу, для чого гістологічні зразки оцінювали з використанням напівкількісної шкали на основі підрахунку балів за наступною методологією: 0 балів відповідало відсутні м ознакам остеогенезу навколо нанографту, 1 бал – наявності клітин чи остеїду навколо біоматеріалу, 2 бали – виставляли за наявності навколо або всередині біоматеріалу ретикулофіброзної кістки з остеобластами та остеоцитами. Оцінку в 3 бали використовували за наявності ознак ремоделювання з заміщенням ретикулофіброзної кістки на пластинчасту, і 4 бали номінували трабекулам з наявністю остеонів.

Крім того, для оцінки імуногенності біоматеріалу проводили оцінку виразності запальної реакції та клітинний склад інфільтратів. Для оцінки виразності інтенсивності запальної реакції використовували напівкількісний метод за Wälivaara D (2013) з застосуванням шкали від 0 до 4, де 0 – відсутня запальна реакція, 1 – незначні інфільтрати, включаючи локальні та диссеміновані скупчення клітин, 2 – помірна інфільтрація лімфоцитами, 3 – виразна запальна реакція з гігантськими клітинами, 4 – виразна запальна реакція з набряком, гігантськими клітинами та ділянками некрозу.

- *Імуногістохімічне дослідження кістки у зоні аугментації.* Для оцінки імуногенності біоматеріалу проводили оцінку виразності запальної реакції та клітинного складу інфільтратів. Для візуалізації клітин різних ліній, таких як клітини остеогенної лінії диференціювання, лімфоцити та макрофаги, застосовували імуногістохімічні методи дослідження. Використання імуногістохімії дозволяє не лише виявляти специфічні клітинні популяції, а й оцінювати їхній функціональний стан у контексті тканинної відповіді на імплантований біоматеріал.

Візуалізацію різних видів імунних клітин здійснювали за допомогою імуногістохімічного методу. Зрізи тканин виготовляли товщиною 4 мкм, після чого проводили депарафінізацію шляхом інкубації протягом 5 хвилин у двох змінах ксилолу та етанолу з подальшим промиванням у проточній воді. Для демаскування антигенів використовували систему PT-Link (DAKO) із нагріванням зрізів до 98°C протягом 30 хвилин і подальшим охолодженням до 60°C. Для блокування ендогенної пероксидазної активності зрізи інкубували із пероксидним блокуючим реагентом (DAKO, EnVision FLEX), що містить 0,03% перекису водню, протягом 5 хвилин.

Після промивання у TRIS-HCL буфері (pH 7.2, DAKO EnVision FLEX) зрізи інкубували із первинними антитілами протягом 30 хвилин за кімнатної температури. Після цього проводили чергову промивку у TRIS-HCL буфері для видалення надлишкових антитіл. Візуалізацію імуногістохімічної реакції здійснювали із застосуванням полімерної системи детекції EnVision FLEX

(DAKO), що забезпечує високу специфічність і чутливість за рахунок полімерів, кон'югованих із пероксидазою хрому (HRP). Зрізи інкубували з полімером HRP, після чого наносили діамінобензидин (DAB) для виявлення реакції, яка візуалізувалася коричневим кольором. Ядра клітин контрастували гематоксиліном Майєра протягом 1 хвилини, а після промивання в проточній воді зрізи висушували та заключали під покривне скло із використанням монтажного середовища Richard-Allan Scientific Mounting Medium (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA).

Для ідентифікації різних типів клітин застосовували маркери CD8, FOXP3, CD68, CD163, SATB2 та CD34. CD8 використовували для виявлення цитотоксичних Т-лімфоцитів, що відіграють ключову роль у клітинному імунітеті. FOXP3 є маркером регуляторних Т-лімфоцитів, що контролюють аутоімунні процеси та підтримують імунологічну толерантність. CD68 застосовували для виявлення макрофагів, тоді як CD163 ідентифікує макрофаги M2-фенотипу, асоційовані з процесами загоєння тканин. SATB2 є транскрипційним фактором, що активується під час остеогенного диференціювання преостеобластів і активно експресується на стадіях формування кісткової тканини. CD34 є традиційним маркером ендотеліальних клітин і використовується для оцінки ангиогенезу.

Для оцінки потенційного імуногенного ефекту біоматеріалу була проведена оцінка присутності та чисельності клітин вродженого та адаптивного імунітету, що включала аналіз кількості CD68⁺ макрофагів як показника локальної запальної реакції. Крім того, досліджували реакцію цитотоксичних і регуляторних Т-лімфоцитів (CD8⁺ та FOXP3⁺ відповідно), що дозволяло оцінити баланс імунореактивності та імуносупресії у тканинах навколо імплантату. Для оцінки ангиогенезу проводили кількісний аналіз судин, позитивних на маркер CD34. Оцінка ремоделювання кістки включала аналіз клітин, позитивних на маркери CD68 (макрофаги/остеокласти) і SATB2 (остеогенні прогенітори), що дозволяло оцінити ефективність формування нової кісткової тканини та інтеграції біоматеріалу.

Окрім візуалізації клітин різних ліній, враховували щільність розташування клітин різних ліній, використовуючи напівкількісний метод наступним чином: 0 = негативна реакція; 1 = мала кількість імунопозитивних клітин; 2 = помірна кількість імунопозитивних клітин; 3 = значна кількість імунопозитивних клітин. При оцінці імунних клітин (CD8, CD68, FOXP3) не враховували клітини в межах судин.

В узагальненому вигляді дані щодо застосованих к ході імуногістохімічного дослідження біомаркерів надані у таблиці 2.1

Таблиця 2.1 – Характеристика біомаркерів, використаних для імуногістохімічного дослідження

Маркер	Значення	Виробник	Клон
CD8	Маркер Т-цитотоксичних лімфоцитів	DAKO,	C8/144B
FOXP3	Маркер Т-регуляторних клітин	Cell Marque,	EP340
CD68	Лізосомальний глікопротеїн, маркер макрофагів, також експресується в остеокластах (Ashley JW, 2011)	DAKO	KP1
CD163	CD163 є маркером альтернативно активованих, або протизапальних, макрофагів	Cell Marque	MRQ-26
CD34	Маркер ангіогенних клітин (ендотеліоцити судин)	DAKO	QVEnd 10
SATB2	Маркер остеогенного диференціювання, визначається в остеогенних клітинах-попередницях (пре-остеобластах) та остеобластах (Dowrey T, 2019)	Cell Marque	EP281

Цифрові фотографії гістологічних та імуногістохімічних препаратів були отримані з використанням цифрової камери (Leica Microsystems), інтегрованої зі світловим мікроскопом Leica (Leica Microsystems).

При проведенні гістоморфометричного аналізу використовували програмне забезпечення Leica Application Suite (LAS) (Leica Microsystems GmbH). Всі виміри проводили з застосуванням відповідних інструментів, результати зберігали в LAS, екстрагували в Excel для подальшого статистичного аналізу.

2.3.2 *Клінічні методи дослідження*

Для об'єктивної оцінки якості новоутвореної кістки були обрані наступні критерії:

- **Якісний склад кісткової тканини за класифікацією Misch**, яка передбачає диференціацію типів кістки залежно від співвідношення кісткової маси та кісткового мозку [145].
- **Наявність або відсутність кровотечі з аугментованої та власної кістки** під час встановлення імплантатів, що розглядалося як індикатор стану васкуляризації, а отже, і регенеративного потенціалу трансплантату (Chen et al., 2020).
- **Показники щільності кісткової тканини** за даними комп'ютерної томографії, що вимірювалися в одиницях Хаунсфілда (HU), забезпечуючи кількісну оцінку ступеня мінералізації тканин.
- **Показник торку** (моменту сили) при встановленні імплантату, що вимірювався в N/cm та використовувався для оцінки первинної стабільності імпланта (Glauser et al., 2005).

Загалом було проаналізовано 52 ділянки аугментату та 67 ділянок власної кістки. Для мінімізації варіаційних впливів, у порівняння брали відповідні ділянки аугментованої і власної кістки в одного і того самого пацієнта в межах однієї анатомічної області. Такий підхід дозволив суттєво знизити вплив

анатомічно обумовлених відмінностей між різними ділянками верхньощелепного синусу та унеможливити упередженість вибірки.

Для оцінки якісних характеристик новоутвореної кістки через визначеній термін після аугментації нового *кісткового композиту* було досліджувано біоптат, отриманий із верхньощелепного синуса. Переваги даної ділянки для дослідження обумовлені кількома ключовими факторами: верхньощелепний синус являє собою анатомічно замкнений простір, що мінімізує ризик контамінації та забезпечує стабільні умови для неоостеогенезу. Крім того, у цій зоні спостерігається висока ступінь васкуляризації як з боку дна синуса, так і з боку слизової оболонки — мембрани Шнейдера, що критично важливо для ефективної регенерації кісткової тканини відповідно до сучасних даних літератури [1]. Особливістю розташування *кісткового композиту* у верхньощелепному синусі є його повна іммобілізація – необхідна умова для безперешкодного росту нової кістки, оскільки відсутні механічні навантаження, характерні для інших ділянок кісткової тканини. Іммобілізоване середовище сприяє рівномірній інтеграції трансплантата в оточуючу тканину, забезпечуючи оптимальні умови для мінералізації. Пацієнти, включені в дослідження, ретельно відбиралися за критеріями відсутності тяжкої соматичної патології, а також відсутності хронічних або гострих запальних процесів у ділянці носових пазух і верхньощелепних синусів. Наявність таких патологій могла б істотно вплинути на остеоінтеграцію, знижуючи прогнозованість і якість отриманого регенерату.

- *Визначення щільності новоутвореної кісткової тканини.* Для визначення якості кісткової тканини було використано класифікацію, засновану на оцінці щільності кістки. В її основі лежала система, що поділяла кісткову тканину на чотири категорії, розроблена на матеріалі передніх відділів щелеп (рис. 2.1).

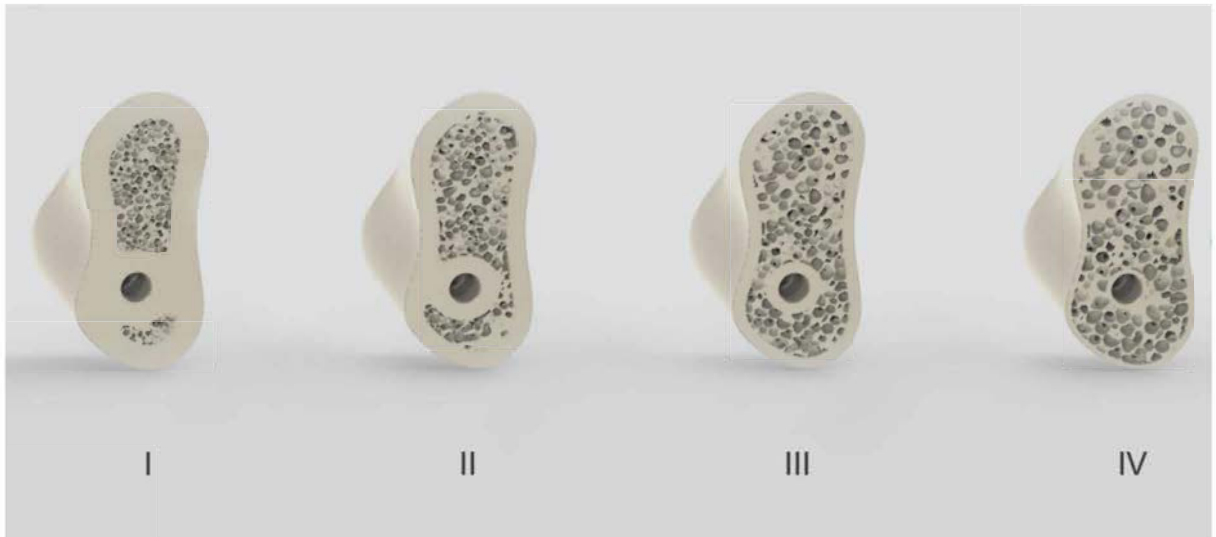


Рисунок 2.1 – Особливості будови ділянки кістки в залежності від її щільності.

Оцінки щільності запропонував Misch [207], який деталізував класифікацію незалежно від анатомічної локалізації імплантації. Оцінка щільності ґрунтувалася на макроскопічних характеристиках кісткової тканини:

D1 – в основному щільна кортикальна кісткова тканина, що забезпечує найвищий рівень первинної стабільності та сприяє прогнозованій остеоінтеграції імплантатів.

D2 – наявність в хрестальній ділянці кортикальної кісткової тканини із варіабельною щільністю (від щільної до пористої), а всередині – груба трабекулярна тканина. Така структура є типовою для багатьох ділянок верхньої та нижньої щелеп.

D3 – характеризується наявністю тонкої, помірно пористої кортикальної тканини та менш щільної трабекулярної частини, що потребує врахування при виборі імплантаційної техніки.

D4 – практична відсутність хрестальної кортикальної тканини, домінування тонкої трабекулярної тканини. У таких умовах ризик первинної нестабільності імплантата значно зростає.

D5 – дуже м'яка кістка із незавершеною мінералізацією, характерна для ділянок регенерації або для пацієнтів із порушеннями метаболізму кісткової тканини.

Щільність кістки визначалася двома способами: тактильне – під час хірургічних маніпуляцій і радіологічно за допомогою комп'ютерної томографії (NewTom Go 70-BE та NewTom GiANO HR).

Другий спосіб – більш об'єктивний, визначається за шкалою одиниць Хаунсфілда:

- D1 – понад 1250 HU;
- D2 – 850–1250 HU;
- D3 – 350–850 HU;
- D4 – 150–350 HU;
- D5 – менше 150 HU.

Щільність в ділянці альвеолярного гребеня часто відрізнялася від щільності в апікальній частині імплантаційного ложа. Найбільш критичним для клінічного прогнозу вважалось визначення щільності на глибині 7–10 мм від краю гребеня, оскільки саме ця зона забезпечувала ключову первинну стабільність імплантата.

- *Наявність кровотечі із сформованого імплантаційного ложа.* При оцінці кровоточивості імплантаційного ложа після проведення остеотомії виділили три варіанти: I ступінь – слабо кровить (одиночні точкові кровотечі), що свідчить про обмежену васкуляризацію ділянки аугментації або недостатній ступінь інтеграції трансплантату з реципієнтною ділянкою; II ступінь – кровить (лінійна або точкова легка кровотеча зі стінок кісткового каналу), що вказує на помірну реваскуляризацію та достатню інтеграцію кісткового трансплантату; III ступінь – інтенсивно кровить (потужна кровотеча, що виникає одразу після проходження фрези через аугментат), що є ознакою високої васкуляризації та активної регенерації тканин. Згідно з дослідженнями, підвищена кровоточивість є позитивним прогностичним маркером у контексті імплантаційної остеогенезної активності.

- *Рівномірність структури кістки при формуванні імплантаційного ложа та відсутність неорганізованих фрагментів аугментату* при промиванні імплантаційного ложа антибіотиком. Рівномірна структура кістки вказує на оптимальне злиття трансплантованого матеріалу з реципієнтною тканиною. Відсутність неорганізованих залишків аугментату при промиванні дозволяє припустити ефективний процес ремоделювання тканин та завершення етапу заміщення трансплантату новоутвореною кісткою. Це відповідає сучасним уявленням про остеокондуктивні властивості трансплантатів.

Поєднання високої та рівномірної щільності кісткової тканини з вираженою кровоточивістю в області проведеної аугментації виступало показником високого ступеня її організації. Оптимальна якість сформованої тканини є критичним чинником для забезпечення первинної стабільності імплантату та подальшого успіху osteointegraції.

- *Величина обертального моменту (торку) при інсталяції імплантату* визначає ступінь компресії кісткової тканини, необхідну для створення щільного контакту між поверхнею імплантату і навколишньою кістковою тканиною. Цей параметр є ключовим показником первинної стабільності імплантату.

Необхідний рівень первинної стабільності імплантату досягається при величині обертального моменту (торк) 35–40 Н·см і більше. Ці значення узгоджуються з даними численних досліджень, які вказують на необхідність досягнення мінімального торка для запобігання мікрорухливості імплантату у кістковому ложі на початкових етапах osteointegraції. Визначення торка проводили за допомогою електронного датчика моменту обертання фізіодиспенсера в режимі встановлення імплантату (implantmed SI-923 REF 00900100 W&H). Цей пристрій забезпечує високу точність вимірювань та реєстрацію параметрів у реальному часі, що мінімізує ризики пов'язані з людським фактором. Реєстрацію показань проводили в момент занурення шийки внутрішньокісткової частини імплантату у зовнішній кортикальний шар кістки. Саме в цей момент виникає максимальна механічна взаємодія між

імплантатом та кісткою, що критично для первинної стабільності. Показники торка менше 35 Н·см вважалися незадовільними. У разі перевищення показників торка більше 40 Н·см здійснювалося зниження показників моменту обертання шляхом допрацювання імплантаційного ложа. Таким чином забезпечувався баланс між достатньою механічною стабільністю та збереженням життєздатності кісткової тканини.

Відповідно до закону Вольфа, механічне навантаження стимулює кісткову адаптацію шляхом перебудови тканини відповідно до напрямку діючих сил. Згідно із законом Вольфа, напруги, що виникають в кістковій тканині, запускають процес адаптивної перебудови, швидкість і результат якої значною мірою залежать від величини напруги в зонах їх локальної концентрації і виду напружено-деформованого стану. Ці механізми мають фундаментальне значення для підтримання довгострокової стабільності імплантатів, оскільки сприяють ремоделюванню кісткової тканини відповідно до функціональних вимог.

При встановленні дентальних імплантатів у кістковій тканині щелеп виникають зони локальної концентрації напруги, величина яких залежить від величини обертального моменту (торк) та особливостей архітектоніки щелепи. Клінічні дані підтверджують, що неправильне співвідношення обертального моменту та анатомічних особливостей щелепної кістки може спричинити некроз тканин або ранню втрату імплантату. Величина локальних напруг нелінійно зростає при зменшенні товщини кортикального шару та підвищенні величини торка. Таким чином, клінічний контроль за торком при встановленні імплантату є важливою складовою профілактики ускладнень.

- Візуально-аналогова шкала (ВАШ) оцінки перебігу післяопераційного періоду

Для клінічної оцінки перебігу післяопераційного періоду за ознаками запалення після проведення операції субантральна аугментація матеріалом гідроксиапатиту трикальційфосфату нами була розроблена візуально-аналогова шкала ВАШ (табл. 2.2).

Оцінка з використанням ВАШ враховувала наявність та ступінь виразності таких показників запалення післяопераційної рани:

1. Інтенсивність болю (ІБ) (від 0 до 3 балів); де 0 балів – біль відсутній; 1 бал – слабкий біль; 2 бали – помірний біль; 3 бали – інтенсивний біль.

2. Носове дихання на стороні втручання (НДНСВ) (від 0 до 3 балів); де 0 балів – носове дихання не порушене; 1 бал – незначне порушення носового дихання; 2 бали – значне порушення носового дихання; 3 бали – повна відсутність носового дихання.

3. Порушення чутливості (ПЧ)(відчуття оніміння) шкіри підочної ділянки на стороні втручання (від 0 до 3 балів): 0 балів – порушення чутливості відсутнє; 3 бали – порушення чутливості у підочної ділянці.

4. Наявність набряку (НН) (від 0 до 3 балів): 0 балів – набряк відсутній; 1 бал – набряк однієї анатомічної ділянки; 2 бали – набряк двох анатомічних ділянок; 3 бали – набряк трьох анатомічних ділянок та більше.

5. Виділення з рани (ВЗР) (від 0 до 3 балів): 0 балів – виділення відсутні; 1 бал – виділення геморагічні; 2 бали – виділення серозні; 3 бали – виділення гнійні.

6. Виділення з половини носу (ВЗПН): 0 балів – виділення відсутні; 1 бал – виділення геморагічні; 2 бали – виділення серозні; 3 бали – виділення гнійні.

7. Гіперемія у ділянці післяопераційної рани (ГУДПР): 0 балів – відсутні гіперемія; 3 бали – присутні гіперемія.

Таблиця 2.2 – Візуально-аналогова шкала (ВАШ) оцінки перебігу післяопераційного періоду хворого (ої) _____, _____ років
(прізвище, ім'я, по батькові)

№ з/п	Ознака	Бал				Оцінка балу
		«0»	«1»	«2»	«3»	
1	Інтенсивність болю	відсутній	слабкий	помірний	інтенсивний, що потребує знеболювання	
2	Носове дихання	не порушене	незначне порушення	значне порушення дихання	повна відсутність дихання	

3	Оніміння	відсутнє	підочної ділянки	підочної ділянки та ділянки щоки	поширення оніміння до носо-губної ділянки	
4	Набряк	відсутній	локальний набряк	з поширенням набряку параорбітально	з поширенням набряку параорбітально та на ділянку щоки	
5	Виділення з рани	відсутнє	Геморагічне	серозне	гнійне	
6	Виділення з половини носу	Відсутнє	Геморагічне	серозне	гнійне	
7	Гіперемія у ділянці післяопераційного рубця	Відсутнє			присутнє	
10	Загалом					

Максимально можливий середній бал ВАШ одного показника становило 3 бали. Максимально можливий сумарний бал значення за шкалою ВАШ для одного пацієнта складав 21 бал. Загальне значення балів був показником якості перебігу післяопераційного періоду. Оцінка клінічних проявів за шкалою ВАШ проводилася на першу, третю, сьому добу після оперативного втручання (додаток таблиці).

2.3.3 Статистичний методи дослідження. Аналіз результатів дослідження здійснювався з використанням статистичного пакету ліцензійної програми «Statistica», версія 13 (Copyright 1984-2018 TIBCO Software Inc., Ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J), яка відповідає сучасним вимогам до проведення статистичних обчислень у біомедичних дослідженнях.

Нормальність розподілу кількісних ознак перевіряли за допомогою тесту Шапіро–Уїлка, який має високу чутливість при малих вибірках. У випадках, коли розподіл даних відрізнявся від нормального, результати подавалися у вигляді медіани з міжквартильним розмахом – Me (Q25; Q75). Для параметрів із нормальним розподілом використовували середнє значення та середньоквадратичне відхилення ($M \pm SD$). Для оцінки достовірності відмінностей між двома незалежними групами застосовували критерій Манна–

Уітні або критерій Стьюдента, залежно від результатів аналізу нормальності розподілу. Для трьох і більше незалежних груп використовували критерій Краскела–Уоліса, що дозволяло виявити загальні відмінності без припущення про нормальний розподіл.

Оцінку наявності та сили кореляційних зв'язків між показниками здійснювали за допомогою непараметричних коефіцієнтів Спірмена та гамма-коефіцієнт (Гудмана—Крускала) Статистично значущими вважали результати при рівні значущості $p \leq 0,05$, що відповідає загальноприйнятим стандартам у медичних дослідженнях.

Частоти представлено у вигляді абсолютних і відносних значень. Показники за візуально-аналоговою шкалою представлено як медіану (Me) та нижній і верхній кuartилі (Q25; Q75). Статистичний аналіз значень аналоговій шкали проводили порівнянням частот інтенсивності та прояви ознак за допомогою критерію χ^2 .

РОЗДІЛ 3
ВИЗНАЧЕННЯ СТРУКТУРНИХ ХАРАКТЕРИСТИК
НОВОГО ГІДРОКСИАПАТИТ-ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТНОГО
КІСТКОВОГО КОМПЗИТУ
ТА ОЦІНКА ЙОГО БІОСУМІСНОСТІ IN VITRUM

В останні роки кераміка на основі α та β -ТКФ отримала широке застосування, головним чином завдяки вищій розчинності ТКФ при контакті з рідинами організму. β -ТКФ демонструє нижчу розчинність у воді порівняно з α -ТКФ, який є більш реакційноздатним у водних системах. Коли α -ТКФ контактує з водою або рідинами організму, він швидко гідролізується та переосідає, що робить його цінним компонентом багатьох кальційфосфатних цементів. Порівняно з гідроксиапатитом (ГА), β -ТКФ має кращу біорозкладність і має відносно нижчу швидкість резорбції, ніж α -ТКФ, а нанопориста структура його забезпечує чудову біомінералізацію, клітинну адгезію та проліферацію остеобластів.

Кісткова тканина складається з гідроксиапатиту (ГА) (69–80 %), колагену (17–20 мас. %) та інших речовин (води, білків тощо). Біоматеріали, що використовуються в процедурах реконструкції або відновлення, повинні одночасно демонструвати оптимальні фізико-хімічні та біологічні властивості. Ці оптимальні фізико-хімічні властивості включають жорсткість матеріалу та поверхню, модулі Юнга та Кірхгофа, а також щільність матеріалу. Вони поєднуються з оптимальними біологічними властивостями, такими як екологічна біостабільність, відсутність інтенсивних захисних реакцій, відсутність інтенсивних токсичних та алергічних реакцій, а також відсутність мутагенної та канцерогенної активності, що складає загальні характеристики оптимального матеріалу. Ідеальний матеріал для кісткового трансплантата повинен мати властивості, подібні до кістки, щоб адекватно функціонувати як кістковий замітник. Розуміння структури кістки, механізму формування кістки

та біохімічних факторів, що впливають на ці механізми, є передумовою інженерії кісткової тканини.

Елементарна комірка кристалічного гідроксиапатиту має хімічну формулу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; однак аналіз кісткового мінералу показує молярне співвідношення Ca:P від 1,3:1 до 1,9:1. Це, частково, пов'язано з внеском органічного фосфату в кістковому матриксі в це співвідношення, але також пов'язано з природою самого кісткового мінералу. Зараз визнано, що кістковий мінерал - це гідроксилодефіцитний, кальційдефіцитний, карбонатний апатит. Відкладення нанорозмірного мінералу в кістці під час розвитку та ремоделювання – це складний процес, який включає клітину, органічний позаклітинний матрикс та фізико-хімічні процеси. Кістковий мінерал оптимально має широкий діапазон складів та розмірів, але мінеральні кристали завжди пов'язані з колагеновим матриксом. Колаген I типу є основним компонентом органічного матриксу кістки, що становить приблизно 30% сухого недемінералізованого матриксу. Матеріали на основі фосфатів кальцію широко використовуються для регенерації кісток завдяки їхньому подібному хімічному складу до мінерального компонента кісток. Клінічні дослідження підтвердили, що висококристалічний гідроксиапатит зазнає повільнішої трансформації в кістковій тканині під час процесу резорбції порівняно з високодисперсними матеріалами, такими як нанокристалічні фосфати кальцію.

Фундаментальною відмінністю між ГА в кісткових тканинах та хімічно отриманою ГА є її ультрадисперсна (нано) структура, причому майже 25% атомів розташовані на поверхні кристаліту. Ці поверхневі атоми відіграють безпосередню роль у хімічних та метаболічних процесах, що відбуваються на поверхні, а також в активації механізмів остеосинтезу. Отже, вирішальним фактором у досягненні структури ГА, яка дуже нагадує кісткову тканину людини, є формування наноструктурованого поверхневого рельєфу та нанопористості на підкладці. Це сприяє осадженню нанорозмірних кристалів ГА, надаючи унікальних фізико-хімічних властивостей, які значною мірою сприяють механізмам біоактивації.

3.1. Результати морфологічного дослідження гранул ГАП-ТКФ

Скануюча електронна мікроскопія гранул показала, що зовні матеріал має сферичну форму з незначними дефектами поверхні, які вірогідно утворені аморфним фосфатом кальцію, що можна побачити на рисунку 3.1.

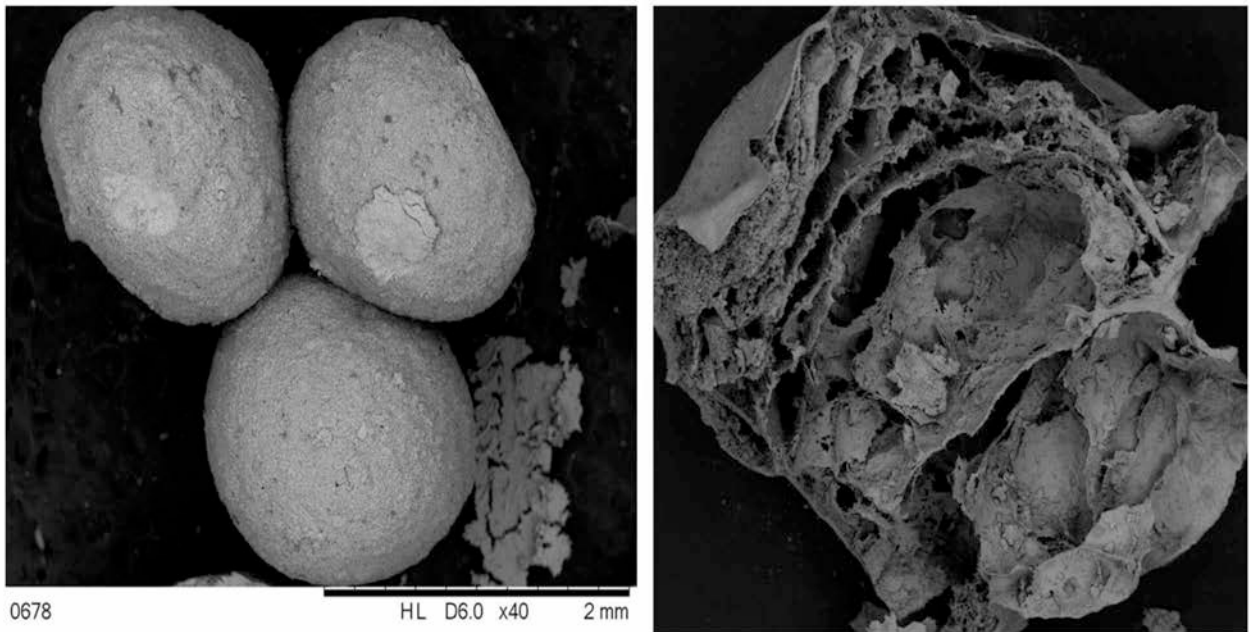


Рисунок 3.1 – Скануюча електронна мікроскопія гранул ГАП-ТКФ.

Включення дефектів поверхні за наявності відносно високої пористості може безпосередньо впливати на механічні властивості, біологічну реакцію та адгезію клітин між біоматеріалом та остеобластами

Близько 60% ваги кістки складається з карбонат-заміщеного апатиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2-2x(\text{CO}_3)_x$, тому гідроксиapatит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) та споріднені з ним фосфати кальцію є основним компонентом матеріалу каркасу для тканинної інженерії кістки. Фосфати кальцію мають відмінну біосумісність завдяки своїй близькій хімічній та кристалічній схожості з кістковим мінералом. Численні дослідження *in vivo* та *in vitro* показали, що фосфати кальцію, незалежно від того, чи є вони масою, покриттям, порошком, пористими та кристалічними, чи аморфними, завжди підтримують прикріплення,

диференціацію та проліферацію остеобластів та мезенхімальних клітин, причому гідроксиапатити є найефективнішими серед них.

На перерізі дослідженого матеріалу помітна значна кількість пор, відсоток яких досягає 65%. Розмір пор коливається від нанометрового діапазону (257 ± 134 нм) до мікронного розміру (369 ± 84 мкм). Таким чином, мезопориста структура матеріалу може забезпечити як міграцію клітин усередину гранул, так і дифузію рідин.

Висока пористість синтезованого гідроксиапатиту ($\approx 65\%$) у поєднанні з широким розподілом розмірів пор, від нанометрового діапазону (257 ± 134 нм) до макропор (369 ± 84 мкм), є критично важливою морфологічною характеристикою для застосувань у регенерації кісткової тканини. У контексті тканинної інженерії саме об'єм пор, їхня взаємозв'язаність (interconnectivity) та наявність макропор визначають здатність матеріалу працювати як тривимірний каркас, що підтримує міграцію клітин, транспорт поживних речовин та видалення метаболітів. Узагальнення великого масиву даних *in vivo* та *in vitro* показує, що підвищення пористості та збільшення ефективного розміру пор зазвичай асоціюється з інтенсивнішим вrostанням кістки всередину каркасу, хоча це супроводжується зниженням механічної міцності, що диктує потребу у компромісі між біологічною функціональністю та несучою здатністю матеріалу [69].

Особливої уваги заслуговує те, що макропори (переважно >100 мкм) вважаються мінімально необхідними для міграції клітин і формування тканини всередині об'єму біоматеріалу, тоді як пори >300 мкм часто пов'язують із покращеною неоангіогенезою та формуванням капілярів, що, своєю чергою, прискорює остеогенез і сприяє прямому формуванню кістки без тривалої хрящової стадії. Враховуючи, що у нашому матеріалі присутні пори до ~ 369 мкм, така морфологія потенційно є сприятливою для розвитку судинної мережі та глибокої тканинної інфільтрації, ключових обмежувальних факторів для “об'ємних” кісткових замінників.

Водночас нанопористість/мікропористість (нано- та субмікронні пори) суттєво збільшує питому поверхню гідроксиапатиту, посилює адсорбцію білків матриксу, змочуваність і іонний обмін у прикордонному шарі “біоматеріал–біорідина”, що позитивно впливає на адгезію та фенотипічну стабілізацію остеобластів/МСК. Практично це означає, що ієрархічна структура (макропори для клітин і судин + мікро/нанопори для дифузії та біоінтерфейсу) працює синергічно: макропори формують простір для заселення, а дрібні пори – “біоактивний” мікрооточення для прикріплення, проліферації й остеогенної диференціації. Подібні висновки продемонстровані для високопористих НА-спінених керамік, де клітини здатні активно колонізувати поровий простір за умови достатньої відкритості та взаємозв’язаності пор [81].

Окремо слід підкреслити роль взаємозв’язаності пор. Навіть за високої загальної пористості недостатня кількість “вікон” між порами може обмежувати проникнення клітин та внутрішнє кісткоутворення, збільшуючи ризик формування слабо інтегрованої структури. Навпаки, повністю взаємозв’язані пористі НА-кераміки демонструють кращі умови для внутрішнього вrostання тканини саме завдяки ефективній перколяції порового простору для клітин і рідин [68].

Таким чином, встановлені нами морфологічні параметри ($\approx 65\%$ пористості та наявність пор від нанометрового до сотень мікрометрів) є вагомим аргументом на користь перспективності отриманого гідроксиапатиту як остеокондуктивного каркасу. У прикладному аспекті доцільно додатково підкреслити, що оптимізація пористості має відбуватися з урахуванням цільового застосування (навантажувані/ненавантажувані дефекти), оскільки збільшення пористості підвищує біологічну ефективність, але зменшує механічну міцність, що є загальновизнаним принципом дизайну тканинно-інженерних каркасів [69].

3.2. Характеристики нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного кісткового композиту, отримані шляхом інфрачервоної спектроскопії

Розчинність фаз фосфату кальцію (СаР) в першу чергу залежить від їхнього хімічного складу, кристалічних властивостей та наявності катіонних або аніонних заміщень в апатитовій решітці. При порівнянні їх розчинення в ацетатному буфері порядок розчинності такий: кістка > емаль > β -ТСП > НА. β -ТКФ демонструє швидше розчинення, ніж ГА у фізіологічних розчинах. На розчинність кераміки СаР також впливають такі фактори, як пористість та розмір частинок. Вища пористість збільшує площу поверхні контакту з рідиною, що призводить до прискореного розчинення. Гідроксиапатит, або гідроксиапатит з дефіцитом кальцію, є найчастіше використовуваним фосфатом кальцію для регенерації кісткової тканини. Брушит та октакальційфосфат також присутні в організмі людини. Вони знаходяться в зубному камені та сприяють патологічній кальцифікації, а також служать проміжними сполуками під час відкладення більш термодинамічно стабільної ГА під час мінералізації кісткової тканини (рис. 3.2).

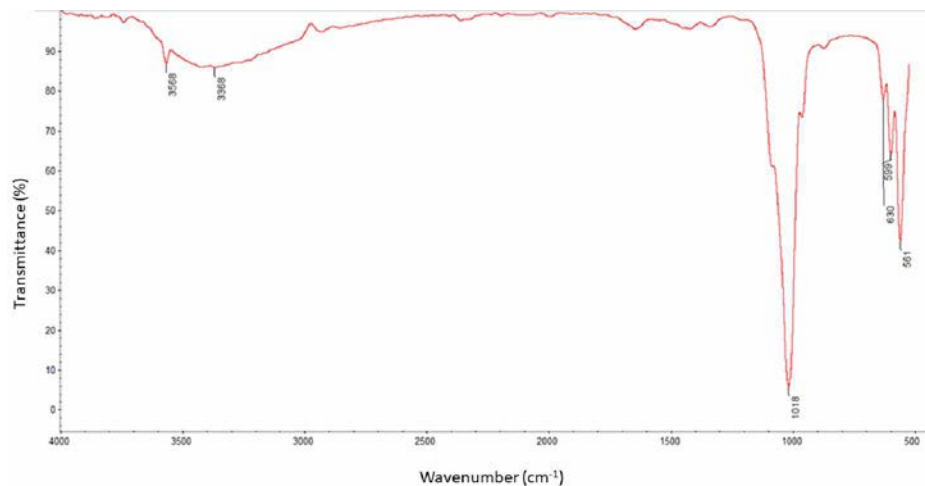


Рисунок 3.2 – Інфрачервоний спектр FT-IR гідроксиапатиту.

Рисунок 3.2 демонструє спектри FT-IR гідроксиапатиту, зі структурною схожістю із природною кісткою. Тому є одним із найважливіших біомінералів і широко використовується в тканинній інженерії та стоматології завдяки своїй

біосумісності. Піки поглинання, що виникли внаслідок асиметричного розтягування (ν_3) фосфатних груп (PO_4^{3-}), розташовані при 1018 cm^{-1} , та є характерною ознакою структури гідроксиapatиту. Відомо, що моди асиметричного розтягування фосфатних груп проявляються саме у цьому діапазоні частот. Піки при 561 і 599 cm^{-1} були приписані модам вигину (ν_4) PO_4^{3-} , які відповідають деформаційним коливанням фосфатного тетраедра, свідчачи про правильність кристалічної структури синтезованого матеріалу. Ці результати узгоджуються з даними, наведеними в роботах з дослідження біоміметичних та синтетичних гідроксиapatитів.

Симетричні моди розтяжки (ν_1 і ν_2) PO_4^{3-} також спостерігалися при близько 961 cm^{-1} , що є типовим для добре впорядкованих фосфатних структур. Зокрема, пік біля 961 cm^{-1} часто вважають діагностичним для визначення ступеня кристалічності гідроксиapatиту, оскільки його інтенсивність і ширина відображають розмір кристалітів та рівень дефектності структури. Слабкий гострий пік при 3568 cm^{-1} відповідав валентним коливанням іонів гідроксилу (OH^-) решітки, що характерно для структури стехіометричного гідроксиapatиту, де гідроксил-групи розташовані вздовж осі кристала.

Типові смуги гідроксиapatиту, які можна віднести до асиметричного розтягування PO_4^{3-} , розташованого на частоті коливань 1018 cm^{-1} (ν_3), а також до вигинальних мод ν_4 при 599 - 561 cm^{-1} і валентної вібрації O-H при 3568 cm^{-1} , були чітко виявлені у спектрі отриманого зразка гідроксиapatиту. Це свідчить про те, що синтезований матеріал зберіг основні характеристики природного НА, необхідні для біомедичних застосувань. Крім того, смуги при приблизно 1400 - 1415 cm^{-1} (ν_3) і 870 cm^{-1} (ν_2) також можуть спостерігатися через присутність карбонатних груп (CO_3^{2-}), що вказує на часткове заміщення фосфатних груп карбонатними в структурі кристалу. Такий тип заміщення є типовим для біогенних гідроксиapatитів і підвищує біосумісність матеріалу.

Розчинність фосфатів кальцію визначається не лише їхньою термодинамічною стабільністю (β -ТСП більш розчинний, ніж НА), але й структурною впорядкованістю, дефектністю решітки та іонними заміщеннями.

У випадку гідроксиапатиту знижена кристалічність, наявність вакансій (зокрема Са-дефіцит) і включення карбонат-іонів зазвичай підвищують хімічну реакційну здатність та швидкість іонного обміну в фізіологічних середовищах, що може позитивно впливати на ранню біоінтеграцію через вивільнення $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$ та формування апатитоподібного шару на поверхні. Це узгоджується з концепцією “біоактивності” СаР, де контрольована (не надмірна) розчинність сприяє остеокондукції й ремоделюванню тканини.

Інтерпретація FT-IR спектра додатково підтримує висновок про збереження ключових структурних ознак апатиту. Смуги $\nu_3(\text{PO}_4^{3-})$ у діапазоні $\sim 1000\text{--}1100\text{ см}^{-1}$, $\nu_4(\text{PO}_4^{3-})$ біля $\sim 560\text{--}605\text{ см}^{-1}$ та вузька смуга валентних коливань OH^- поблизу $\sim 3570\text{ см}^{-1}$ є типовими для кристалічного НА. Водночас параметри піку біля $\sim 960\text{--}963\text{ см}^{-1}$ ($\nu_1\text{ PO}_4^{3-}$) часто використовують як індикатор ступеня кристалічності/впорядкованості: більш вузькі та інтенсивні піки зазвичай відповідають більшим кристалітам і меншій дефектності, що корелює з нижчою розчинністю та повільнішою біорезорбцією. Таким чином, FT-IR у поєднанні з морфологією (пори/питома поверхня) дає непрямі підказки щодо того, як матеріал поводитиметься в біорідинах.

Окремо важливо відзначити наявність смуг карбонатних груп (приблизно $\sim 1410\text{--}1460\text{ см}^{-1}$ для $\nu_3\text{ CO}_3^{2-}$ та $\sim 870\text{--}880\text{ см}^{-1}$ для $\nu_2\text{ CO}_3^{2-}$). Карбонат-заміщений апатит є ближчим до мінеральної фази природної кістки, і така “біоміметичність” часто асоціюється з підвищеною біорезорбцією та кращою клітинною відповіддю, оскільки карбонатні заміщення знижують кристалічну досконалість і підвищують реакційну здатність поверхні. З практичної точки зору, навіть часткове карбонатування може сприяти швидшому формуванню біологічно релевантного апатитного шару та прискоренню інтеграції з кісткою.

Також слід враховувати, що пористість і розмір частинок прямо впливають на кінетику розчинення: зі зростанням пористості та питомої поверхні збільшується площа контакту з буфером/фізіологічним розчином, посилюється дифузія, а отже, прискорюється вивільнення іонів. Для тканинної інженерії кістки це означає, що навіть відносно “стабільний” НА може проявляти

помітнішу розчинність і біоактивність у разі високої пористості, тоді як β -ТСП за аналогічної морфології демонструватиме ще швидшу резорбцію. Саме тому в багатьох роботах підкреслюється доцільність тонкого налаштування співвідношення фаз (наприклад, HA/ β -ТСП у біфазних CaP) для балансування механічної стабільності та темпу ремоделювання.

У підсумку, спектральні ознаки HA (PO_4^{3-} та OH^-) разом із можливими смугами CO_3^{2-} вказують на структурну спорідненість з біогенним апатитом і потенційно сприятливу біологічну поведінку. З огляду на відомі залежності “кристалічність/дефектність \leftrightarrow розчинність \leftrightarrow швидкість ремоделювання”, отримані дані FT-IR можуть бути використані як обґрунтування прогнозованої біоактивності матеріалу та його придатності для кісткової регенерації, особливо за умови контрольованої пористості та стабільності фазового складу.

3.3. Характеристики гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту, отримані шляхом рентгенівської дифракції

Результати XRD-аналізу показали, що отриманий готовий зразок відповідає гідроксиapatиту (ГА), що корелює з даними картки стандарту JCPDS 9-0432. Виявлені дифракційні піки, що узгоджуються з рефlekсами гідроксиapatиту, підтверджують формування основної фази апатитоподібної структури. Проте варто зазначити, що ГА можна класифікувати як нестехіометричний, оскільки спостерігався невеликий зсув основних піків вправо, що свідчить про зміну параметрів ґратки внаслідок дефіциту кальцію або введення домішок. Такий зсув характерний для синтетичних гідроксиapatитів, у яких співвідношення Ca/P зменшене від ідеального значення 1,67, що підтверджено численними дослідженнями. Після термічної обробки зразків при температурі 900 °C спостерігалася поява додаткової фази β -трикальційфосфату (β -ТКФ), що узгоджується з даними картки JCPDS 09-0169. Поява цієї фази обумовлена фазовими перетвореннями нестабільного нестехіометричного ГА при високих температурах. Відомо, що при нагріванні гідроксиapatиту з нестачею кальцію до температур вище 800 °C починається його розпад з утворенням двофазної системи ГА/ β -ТСП, де β -ТСП є

термодинамічно стабільною фазою. Дифрактограми, отримані для готового зразка до термічної обробки, підтвердили наявність бідно-кристалічної фази апатиту, що виявляється у широких і менш інтенсивних піках без додаткових рефлексів інших фаз у складі порошку. Така низька кристалічність є типовою для гідроксиапатитів, отриманих методом мокрого осадження, і свідчить про високу реактивність матеріалу, що важливо для його біомедичного застосування. Проте прожарювання при 900 °С суттєво вплинуло на структурні характеристики зразка, призвівши до утворення фази β -ТКФ, що було чітко зафіксовано на дифрактограмі (рис. 3.3).

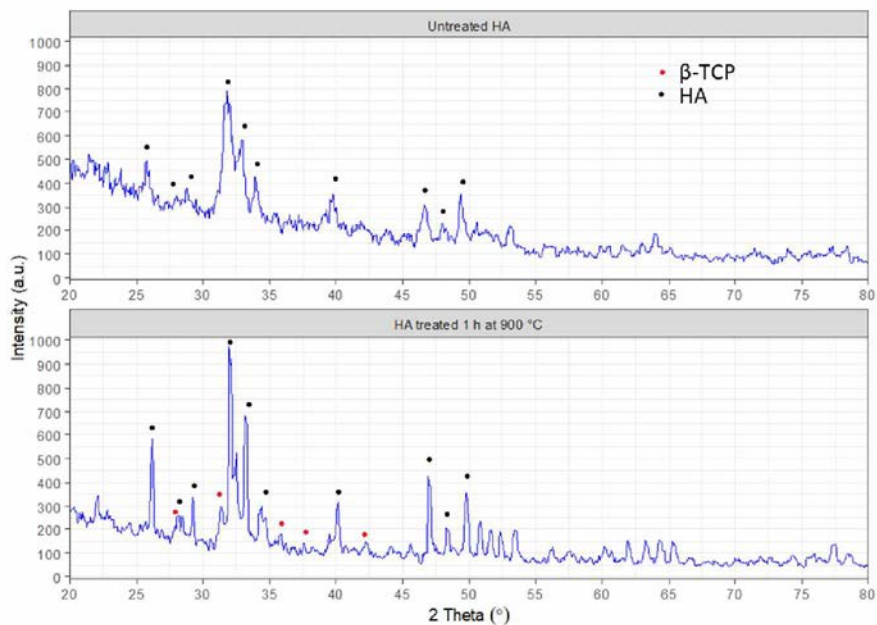


Рисунок 3.3 – XRD синтезованого гідроксиапатиту з дефіцитом кальцію у вигляді готового висушеного порошку та спеченого порошку при 900°C.

Це явище можна пояснити перетворенням кальцій-дефіцитного апатиту в двофазну систему α A та β -ТКФ, що є типовим процесом для подібних матеріалів, оскільки зменшення співвідношення Ca/P прискорює фазову дисоціацію апатиту при підвищених температурах. Заміщені одновалентні іони, такі як Na^+ , а також двовалентні Ca^{2+} у структурі апатиту, призводять до виникнення дисбалансу зарядів у кристалічній ґратці. Для компенсації цього

дисбалансу реалізуються різні механізми, включаючи створення вакансій на місцях іонів або одночасне заміщення катіонів і аніонів. Зокрема, при заміщенні Ca^{2+} на Na^+ та одночасному заміщенні PO_4^{3-} на CO_3^{2-} зберігається електронейтральність ґратки без необхідності утворення вакансій. Такі процеси широко описані в літературі як ключові механізми стабілізації нестехіометричних біоapatитів, що визначає їх функціональні властивості в умовах фізіологічного середовища.

3.4. Біосумісність гідроксиapatит-трикальційфосфатного кісткового композиту *in vitro*

Найважливішою вимогою до матеріалу кісткового каркаса, окрім топографії поверхні, є біосумісність. Бета-трикальційфосфат (β -ТСП — $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) має властивості біосумісності, остеопровідності та остеоіндукції. Поєднання гідроксиapatиту з β -ТСП утворює бімодальний біоматеріал. Гідроксиapatит відіграє фундаментальну роль в адгезії, проліферації та диференціації клітин. Він повільно всмоктується, створюючи простір для обміну елементів, необхідних для сприяння відновленню тканин. Крім того, β -ТСП, який є більш розчинним, відіграє важливу роль щодо іонів кальцію та фосфору, сприяючи остеогенній активності.

Результати дослідження біосумісності продемонстрували покращену адгезію остеобластів на поверхні зразків через добу після початку експерименту. Неорганічний кальцій-фосфат виступав специфічним стимулятором проліферації та диференціації клітин остеобластичного диферону. Через 3 та 5 днів після початку експерименту відсоток редукції резауріну свідчив про більш активну проліферацію клітин на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу у порівнянні з контролем. Однак через 7 днів різниця із контролем зникла через заповнення поверхні лунок клітинами, що відображено на рисунку 3.4.

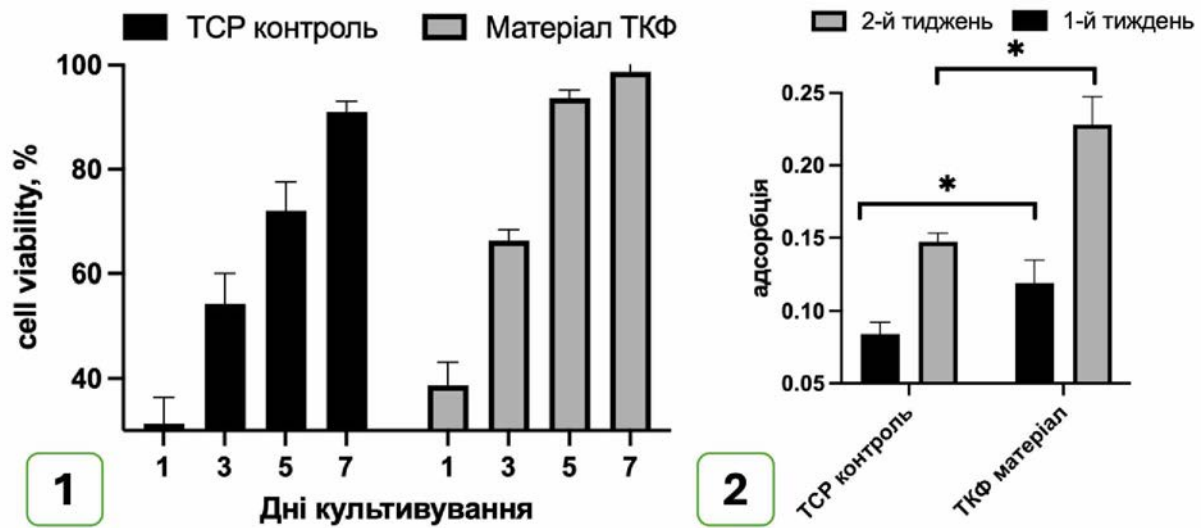


Рисунок 3.4 – Графік редукції резазурину остеобластами при культивуванні упродовж 7 днів на поверхні трикальцій-фосфатного матеріалу (1) та динаміка синтезу колагену клітинами упродовж 2-х тижнів культивування (2).

Визначення продукції колагену як на першому, так і на другому тижні, показало, що клітини, які культивувались на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу, продукували майже удвічі більше колагену. Можна зробити висновок, що спостерігалася наявність індукованої продукції колагену клітинами, що призводила до активної побудови міжклітинного матриксу після імплантації.

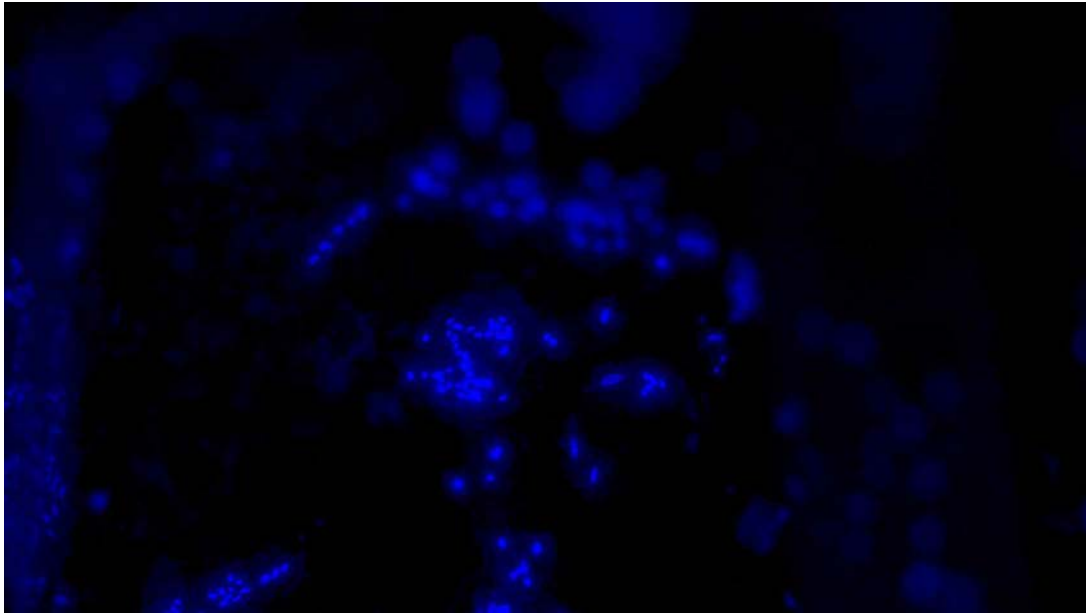


Рисунок 3.5 – Флуоресцентне зображення первинних остеобластів (4-й пасаж) на поверхні синтезованого гідроксиапатиту після 7 днів культивування; забарвлення ядер DAPI (канал DAPI), мікроскоп Axio Imager A1 (Carl Zeiss).

На флуоресцентному зображенні в каналі DAPI (Рисунок 3.5) спостерігаються численні DAPI-позитивні ядра (інтенсивні блакитні/сині сигнали), що вказує на наявність клітин на зразку після 7 днів культивування. Ядра мають переважно точкову/овальну форму та формують локальні скупчення, які концентруються навколо та на поверхні об'ємних структур/частинок матеріалу (ймовірно гранул або агломератів порошку ГА). Такий характер розподілу сигналу свідчить про адгезію остеобластів до біоматеріалу та їх утримання на зразку протягом часу експерименту. В окремих зонах видно більш щільні кластери ядер, що може відповідати ділянкам з кращою мікротопографією/пористістю та збільшеною площею контакту клітин із поверхнею матеріалу.

Встановлені раніше морфологічні та спектральні характеристики матеріалу безпосередньо пояснюють отримані результати клітинних досліджень. Висока пористість і розвинений мікрорельєф збільшують ефективну площу поверхні та кількість місць для адсорбції білків сироватки, що є ключовим для інтегрин-опосередкованої адгезії остеобластів. Одночасно

FT-IR підтверджує збереження апатитної структури та біоміметичність кальцій-фосфатної фази, яка забезпечує сприятливий іонний обмін ($\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$) на межі “матеріал–середовище”, підтримуючи проліферацію клітин і синтез позаклітинного матриксу.

Отримані результати підтверджують, що синтезований кальцій-фосфатний матеріал характеризується високою біосумісністю та створює сприятливі умови для адгезії й функціональної активності остеобластів. Це узгоджується з відомою біоміметичною природою систем на основі гідроксиapatиту та β -трикальційфосфату, хімічний склад яких близький до мінеральної фази кістки, а також із їх здатністю підтримувати остеокондукцію та стимулювати клітинні відповіді за рахунок контрольованого іонного обміну.

Ключовим чинником біосумісності в даному випадку є сукупність фізико-хімічних властивостей матеріалу: (i) кальцій-фосфатна природа поверхні, що забезпечує високу змочуваність та адсорбцію білків сироватки (фібронектину, вітронектину), які є “якорями” для інтегрин-опосередкованої адгезії клітин; (ii) наявність біоактивного іонного середовища на межі “матеріал–культуральне середовище”, зумовленого вивільненням/обміном Ca^{2+} та фосфат-іонів, що може підтримувати остеогенну поведінку клітин; (iii) мікро- та мезорельєф поверхні (частинки/агломерати, пористість), який збільшує ефективну площу контакту та створює додаткові точки прикріплення. Саме така комбінація “хімічної спорідненості” з кістковим мінералом і розвиненої поверхні зазвичай приводить до покращеної адгезії остеобластів порівняно з інертними субстратами.

Динаміка редукції резазурину демонструє, що вже через 1 добу спостерігалось покращення адгезії остеобластів на кальцій-фосфатній поверхні, а на 3–5 добу – вища метаболічна активність/проліферація у порівнянні з контролем. Це можна інтерпретувати як ознаку того, що матеріал не чинить цитотоксичного впливу, а навпаки, формує мікрооточення, яке підтримує клітинний метаболізм та розмноження. Зникнення різниці на 7 добу є логічним наслідком досягнення високої щільності клітин у контрольних лунках (ефект

“конфлюентності”), коли подальше зростання обмежується площею поверхні та контактним інгібуванням, тому метаболічні показники вирівнюються незалежно від субстрату.

Важливим підтвердженням функціональної сумісності матеріалу є підвищена продукція колагену упродовж першого та другого тижня культивування, майже у два рази вища у порівнянні з контролем. Оскільки колаген I типу є основним білком кісткового позаклітинного матриксу, така відповідь свідчить не лише про виживання клітин, але і про їх перехід до більш “матрице-формуєчого” фенотипу. У контексті регенерації кістки це є принципово важливим, адже синтез колагенового матриксу є передумовою для подальшої мінералізації та формування зрілої кісткової тканини.

Якісні дані флуоресцентної мікроскопії з DAPI (Рисунок 3.5) узгоджуються з результатами метаболічного тесту: на 7 добу фіксуються численні ядра остеобластів, що підтверджує утримання клітин на зразку та їх розподіл по поверхні матеріалу. Локальні скупчення ядер навколо частинок/агломератів ГА можна пояснити тим, що ділянки з більш вираженим мікрорельєфом і вищою питомою площею створюють переваги для первинної адгезії (більше місць для адсорбції білків і механічного “якоріння” клітин). У підсумку, поєднання кількісних (резазурин, колаген) та якісних (DAPI) даних формує цілісну картину: матеріал є біосумісним, не пригнічує клітинну активність і забезпечує високий ступінь адгезії остеобластів, що визначає його перспективність як компонента кісткового каркаса та субстрату для формування міжклітинного матриксу.

3.5. Взаємодія гідроксиапатит-трикальційфосфатного кісткового композиту з кров'ю

Середній час утворення тромбу при контакті з гідроксиапатитом становив 55 ± 17 секунд. Досліджуваний матеріал був гідрофільним, але не поглинав весь об'єм крові без змішування. Згусток міцно з'єднував окремі фрагменти зразків між собою та дном посуду, що можна побачити на рисунку 3.6. Цільна кров

згорталася за $3,4 \pm 22$ хвилини в чашках Петрі без матеріалу для трансплантації кістки. Взаємодія цільної венозної крові з гідроксиапатитом призводила до швидкої зміни кольору на яскраво-червоний із зеленим відтінком. Кров без проб залишалася темно-червоною.



Рисунок 3.6 – Згусток крові, сформований після взаємодії з матеріалом (зліва) та формені елементи крові на поверхні матеріалу, виявлені на скануючому електронному мікроскопі.

Отримані результати свідчать, що синтезований гідроксиапатит проявляє виражену гемостатичну активність та здатність ініціювати швидке формування тромбу при контакті з цільною венозною кров'ю. Середній час утворення згустка 55 ± 17 с є істотно меншим за час спонтанного згортання крові без матеріалу ($3,4 \pm 22$ хв), що вказує на активну участь поверхні кальцій-фосфатного субстрату в запуску коагуляційного каскаду. З практичної точки зору, така поведінка важлива не лише як ознака гемосумісності, але й як функціональна характеристика матеріалу для умов імплантації, де первинний контакт із кров'ю є неминучим і визначає подальший перебіг регенерації.

Ключовим аспектом є те, що взаємодія крові з гідроксиапатитом забезпечує утворення фібринового згустка, який виконує роль натурального тимчасового

каркаса (scaffold) безпосередньо на поверхні та між фрагментами матеріалу. На макрорівні це проявляється як міцне “склеювання” частинок/фрагментів зразка між собою та їх фіксація до дна посуду (Рисунок 3.2). На мікрорівні SEM-візуалізація формених елементів крові на поверхні підтверджує інтенсивну адгезію клітин крові та формування структурованого тромбу. Такий фібриновий матрикс є фізіологічно релевантним, оскільки в нормальному процесі загоєння саме фібрин створює первинну тривимірну сітку, яка утримує клітини, концентрує сигнальні молекули та забезпечує “перехідний” субстрат для міграції клітин у зону ушкодження.

Принципова перевага виявленого ефекту полягає в тому, що фібриновий згусток формує біоактивний інтерфейс, який у багатьох аналогічних матеріалах або відсутній, або проявляється слабо (наприклад, на інертних полімерних або слабкогідрофільних поверхнях, де кров формує нестабільний шар, що легко змивається і не створює вираженої тривимірної сітки). Фібринова мережа, на відміну від “порожньої” поверхні матеріалу, одразу надає клітинам сайти прикріплення (через білки плазми та зв’язування інтегринів), а також забезпечує механічне утримання клітин у зоні контакту. У випадку кісткової регенерації це має критичне значення, оскільки рання стабілізація кров’яного згустка в дефекті визначає якість первинного загоєння, подальшу інфільтрацію мезенхімальних стовбурових клітин, ангиогенез і формування грануляційної тканини, яка згодом ремоделюється у кістковий матрикс.

З огляду на фізико-хімічні властивості гідроксиапатиту, прискорення тромбоутворення можна пояснити поєднанням гідрофільності, розвиненої поверхні та кальцій-фосфатної хімії. Гідрофільна поверхня сприяє швидкому змочуванню та адсорбції білків плазми (фібриногену, альбуміну, факторів згортання), що є першою стадією формування “біологічної плівки” на імплантаті. Далі на такому протеїновому шарі активуються тромбоцити та запускаються реакції коагуляційного каскаду, які завершуються полімеризацією фібрину й стабілізацією згустка. Додатково, кальцій як ключовий кофактор низки етапів згортання може локально впливати на

швидкість реакцій при контакті крові з кальцій-вмісною поверхнею, посилюючи формування тромбу. Саме тому спостережувана міцність згустка та його здатність поєднувати фрагменти матеріалу є логічним наслідком високої реакційної здатності поверхні та ефективного формування фібринової сітки.

Описана зміна кольору крові при контакті з матеріалом (яскраво-червоний із зеленим відтінком) може відображати ранні фізико-хімічні та біохімічні перетворення в прикордонному шарі “кров–матеріал”: інтенсивне змочування, перерозподіл еритроцитів і плазми, активацію тромбоцитів та локальні зміни окисно-відновного стану гемоглобіну. Важливо, що в контролі без матеріалу кров зберігає темно-червоний колір, що непрямо підкреслює активну взаємодію саме з поверхнею гідроксиапатиту, а не лише часовий фактор.

У підсумку, результати демонструють, що синтезований гідроксиапатит не просто є біосумісним у контексті контакту з кров'ю, а проявляє функціонально корисну властивість, швидке формування стабільного фібринового згустка, який діє як природний тимчасовий scaffold. Такий scaffold потенційно підсилює адгезію та утримання клітин у зоні імплантації, створює мікрооточення для міграції клітин та раннього матриксутворення і може розглядатися як важлива відмінність від аналогічних матеріалів, що не забезпечують стабільної фібринової сітки на поверхні. Це підвищує перспективність матеріалу як компонента кісткових замінників, особливо в умовах, де необхідні одночасно гемостатичний ефект, первинна стабілізація дефекту та сприятливий біоінтерфейс для подальшої регенерації тканин.

Резюме до розділу 3:

Скануюча електронна мікроскопія гранул показала, матеріал, який представлений на дослідження, являє собою кальцій-дефіцитний гідроксиапатит з трикальцій-фосфатом. Зовні він має сферичну форму з незначними дефектами поверхні, які вірогідно утворені аморфним фосфатом кальцію. На перерізі матеріалу помітна значна кількість пор, відсоток яких

досягає 65%. Розмір пор коливається від нанометрового діапазону (257 ± 134 нм) до мікронного розміру (369 ± 84 мкм). Таким чином, мезопориста структура матеріалу може забезпечити як міграцію клітин усередину гранул, так і дифузію рідин.

Результати дослідження біосумісності продемонстрували покращену адгезію остеобластів на поверхні зразків через добу після початку експерименту. Неорганічний кальцій-фосфат виступав специфічним стимулятором проліферації та диференціації клітин остеобластичного диферону. Через 3 та 5 днів після початку експерименту відсоток редукції резазуріну свідчив про більш активну проліферацію клітин на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу у порівнянні з контролем. Однак через 7 днів різниця із контролем зникла через заповнення поверхні лунок клітинами. Отже, матеріал є нетоксичним та стимулює адгезію і проліферацію остеобластів а також синтезу колагену клітинами.

Визначення продукції колагену як на першому, так і на другому тижні, показало, що клітини, які культивувались на поверхні кальцій-фосфатного матеріалу, продукували майже удвічі більше колагену. Можна зробити висновок, що спостерігалася наявність індукованої продукції колагену клітинами, що призводила до активної побудови міжклітинного матриксу після імплантації.

Середній час утворення тромбу при контакті з гідроксиапатитом становив 55 ± 17 секунд. Досліджуваний матеріал був гідрофільним, але не поглинав весь об'єм крові без змішування. Згусток міцно з'єднував окремі фрагменти зразків між собою та дном посуду. Цільна кров згорталася за $3,4 \pm 22$ хвилини в чашках Петрі без матеріалу для трансплантації кістки. Взаємодія цільної венозної крові з гідроксиапатитом призводила до швидкої зміни кольору на яскраво-червоний із зеленим відтінком. Кров без проб залишалася темно-червоною. Таким чином, при взаємодії з кров'ю матеріал забезпечує її швидке згортання, що може забезпечити формування «фібрінового каркасу» в процесі остеогенезу.

Основні положення цього розділу опубліковані в 2-х статтях та 1 тезах:

1. Mishchenko O, Yanovska A, Sulaieva O, Moskalenko R, Pernakov M, Husak Y, Korniienko V, Deineka V, Kosinov O, Varakuta O, et al. From Synthesis to Clinical Trial: Novel Bioinductive Calcium Deficient HA/ β -TCP Bone Grafting Nanomaterial. *Nanomaterials*. 2023; 13(12):1876. <https://doi.org/10.3390/nano13121876> (Дисертантом проведено збір та розробку матеріалів, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті; Sulaieva O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних)
2. Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O, et al. Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. *Polymers (Basel)*. 2023;15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822 (Дисертантом проведено збір та аналіз літературних джерел, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
3. Створення та аналіз оптимізованого кісткового композиту з підвищеним ефектом біосумісності/ О.С. Косінов // “Promising ways of improving science and scientific solutions”: Матер. наук.-практ. конф. (Варшава, Польща, 26-28.06.2023). – С. 93-95.

РОЗДІЛ 4
МОРФОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ
АУГМЕНТАЦІЇ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ
ТА ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОГЕНЕТИЧНИХ
ТА ІМУНОГЕНИХ ЕФЕКТІВ НАНОГРАФТУ

4.1 Структурний склад біоптатів з зони аугментації синусів новим композитним матеріалом з гідроксиапатит-трикальційфосфату

Морфологічна оцінка результатів аугментації дозволила виявити наявність ознак активного остеогенезу в зонах інтересу. Значні ділянки біоптатів були сформовані розгалуженими кістковими трабекулами, товщина яких варіювала від 20 до 190 мкм. В межах кісткових трабекул визначалися ділянки Нанографту, що мали вигляд глибок (гранул) і з усіх боків були оточені новоутвореною кістковою тканиною, що можна побачити на рисунку 4.1.

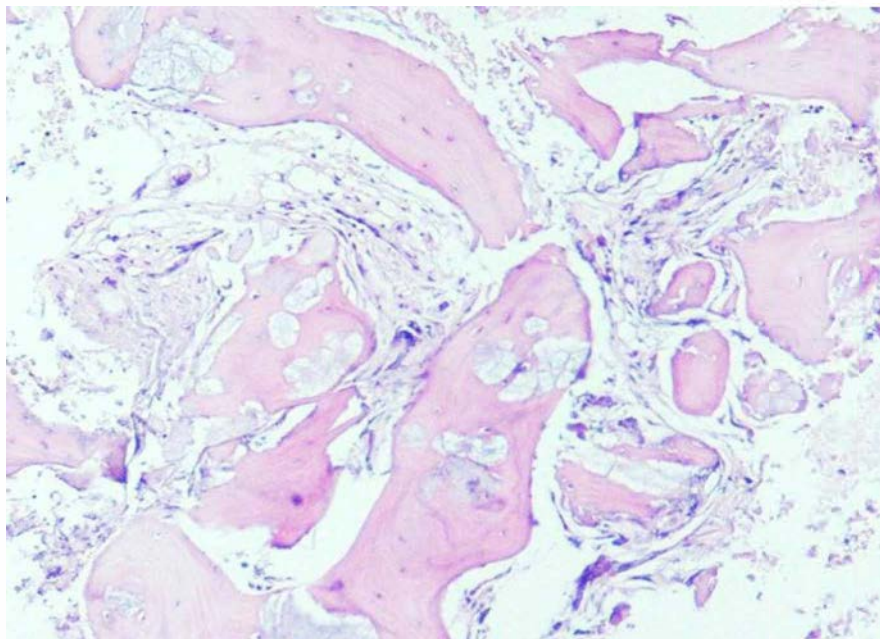


Рисунок 4.1. – Структурний склад біоптатів з зони аугментації синусів. Гістологічний препарат. Зabarвлення гематоксиліном та еозином.Зб. 40

Крім того, у деяких зразках визначалися вільно розташовані залишки Нанографту, а також частково оточені кістковою тканиною осередки біоматеріалу. Ділянки між кістковими трабекулами були заповнені сполучною тканиною з численними судинами мікроциркуляторного русла.

При гістоморфометричному аналізі структурного складу тканин біоптатів з зон аугментації синусів визначено, що кісткові трабекули склали $44,6 \pm 1,73\%$ (95% ДІ 41,1-48,2%). Питомий об'єм сполучної тканини був порівняним і формував $46,6 \pm 1,70\%$ (95% ДІ 43,1-50,1%). Натомість залишки нанографту були незначними, їх частка складала $9,7 \pm 0,99$ (95% ДІ 7,6-11,8%). Питомі площі кісткових трабекул, сполучної тканини та залишків Нанографту відображено на рисунку 4.2.



Рисунок 4.2 – Питомі площі кісткових трабекул (ВТ), сполучної тканини (СТ) та залишків нового композитного матеріалу з ГА-ТКФ.

Залишки нанографту визначалися переважно інтратрабекулярно - всередині кісткових трабекул, мали глобулярну форму та пористу структуру, забарвлювалися слабо-базфільно при фарбуванні гістологічних препаратів гематоксиліном та еозином (рисунок 4.3).

В деяких зразках визначалися екстратрабекулярні залишки біоматеріалу, які мали аналогічну структуру, але ззовні були оточені сполучною тканиною та незначною кількістю клітин.

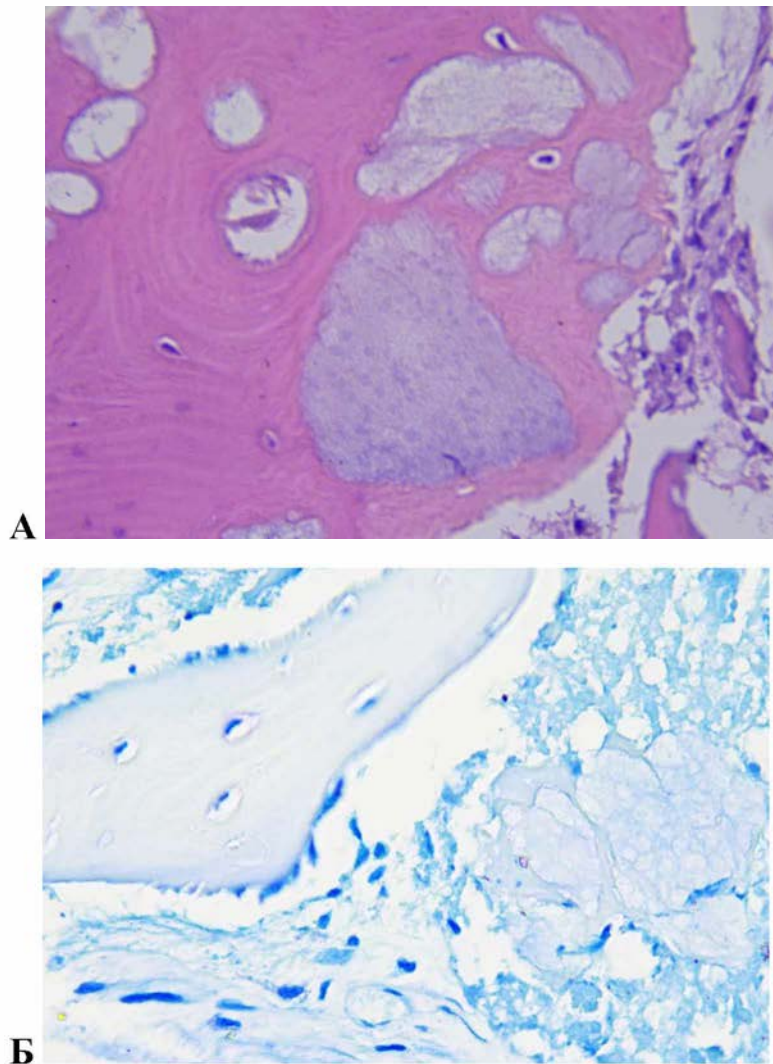


Рисунок 4.3 – Інтра- та екстратрабекулярне розташування залишків нанографту. А – Залишки біоматеріалу визначаються всередині кісткової трабекули, оточені мінералізованим матриксом кісткової тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. 400.

Б – Екстратрабекулярний осередок залишків Нанографту (праворуч). Забарвлення толуїдиновим синім. Зб. 400.

Аналіз будови кісткових трабекул виявив гетерогенність їх гістологічної структури: частина трабекул була представлена переважно грубоволокнистою (ретикулофіброзною) кістковою тканиною. Кісткові трабекули, що утворювали

між собою анастомози, характеризувалися варіабельністю товщини, на їх поверхні визначалися переважно остеобласти, які формували суцільний шар, в інших ділянках – виявлялися зони резорбції з розташованими на поверхні трабекул остеокластами (рисунок 4.4).

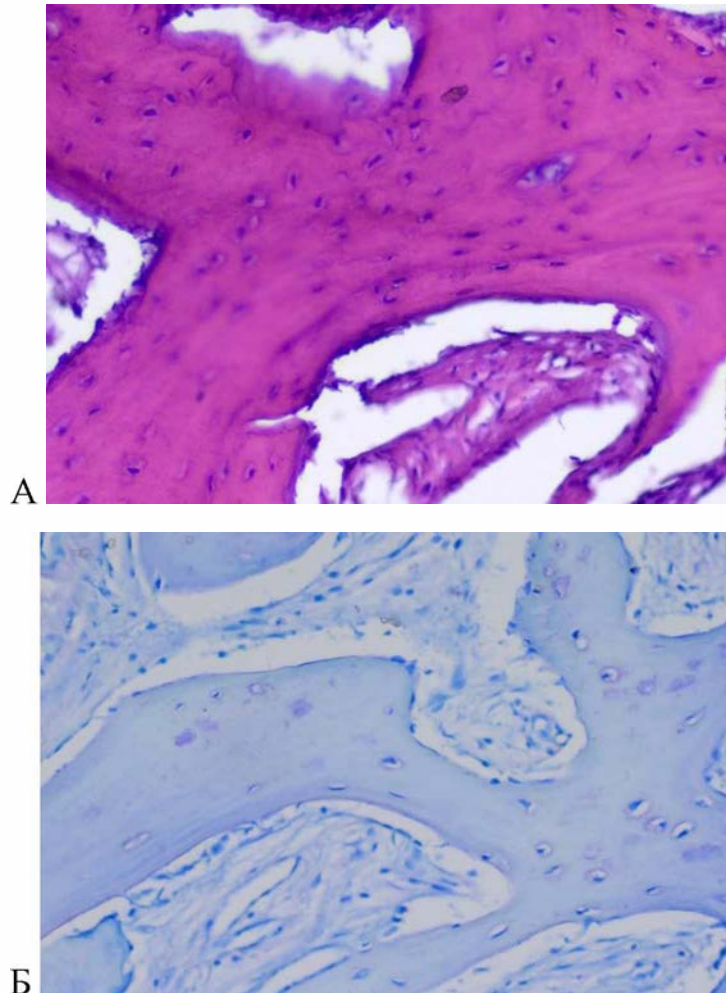


Рисунок 4.4 – Анастомозуючі кісткові трабекули, гетерогенні за розміром та структурою.

А – гістологічний препарат біоптату тканин з зони аугментації синусу при забарвленні гематоксиліном та еозином. Б – забарвлення толуїдиновим синім. Метахроматичне забарвлення перилакунарного матриксу грубоволокнистої кісткової тканини. Зб. 100.

Всередині кісткових трабекул визначалися численні лакуни з остеоцитами, розташовані переважно нерегулярно на різній відстані одна від одної. Перилакунарний простір характеризувався помірною метахромазією матриксу при забарвленні толуїдиновим синім. Простори між лакунами були

заповнені гомогенним кістковим матриксом, що забарвлювався яскраво-оксифільно при фарбуванні гематогксиліном та еозином. Варіабельність будови кісткових трабекул у біоптаті з зони аугментації синусу продемонстровано на рисунку 4.5.

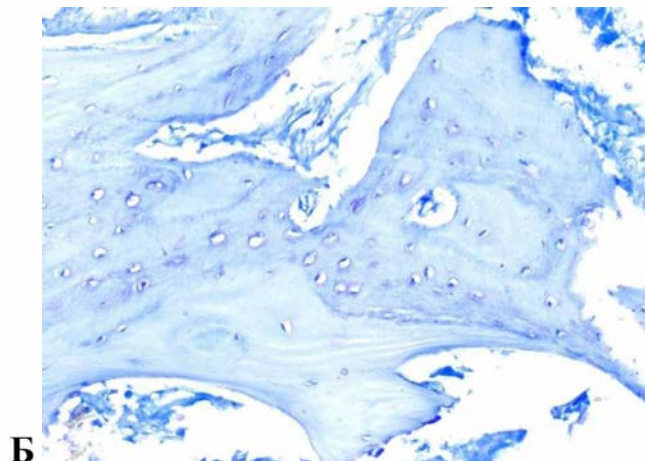
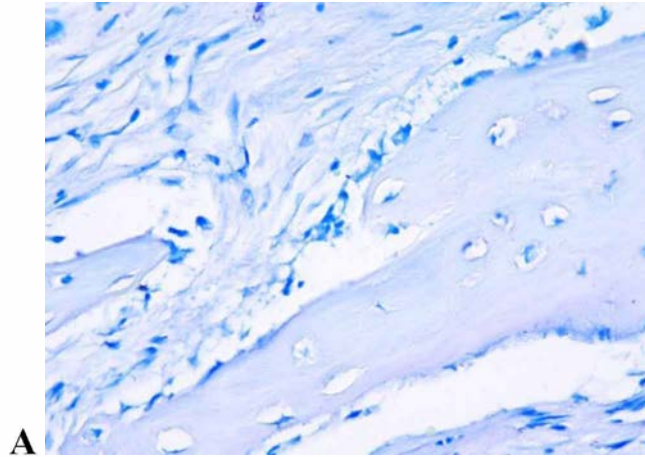


Рисунок 4.5 – Варіабельність будови кісткових трабекул у біоптаті з зони аугментації синусу.

А – кісткова трабекула, утворена грубоволокнистою кістковою тканиною. Забарвлення толуїдиновим синім. Зб. 400.

Б - кісткова трабекула з ознаками ремоделювання і заміщення грубоволокнистої кісткової тканини пластинчастою кісткою. Забарвлення толуїдиновим синім. Зб. 200.

В значній частині трабекул визначалися ознаки активного ремоделювання із заміщенням грубоволокнистої кісткової тканини пластинчастою кісткою. У її складі чітко візуалізувалося чергування паралельно розташованих світлих та темних кісткових пластин, та регулярно орієнтованих лакун з остеоцитами.

Певна кількість кісткових трабекул була утворена вторичною (пластинчастою) кістковою тканиною; фрагменти таких трабекул продемонстровано на рисунку 4.6.

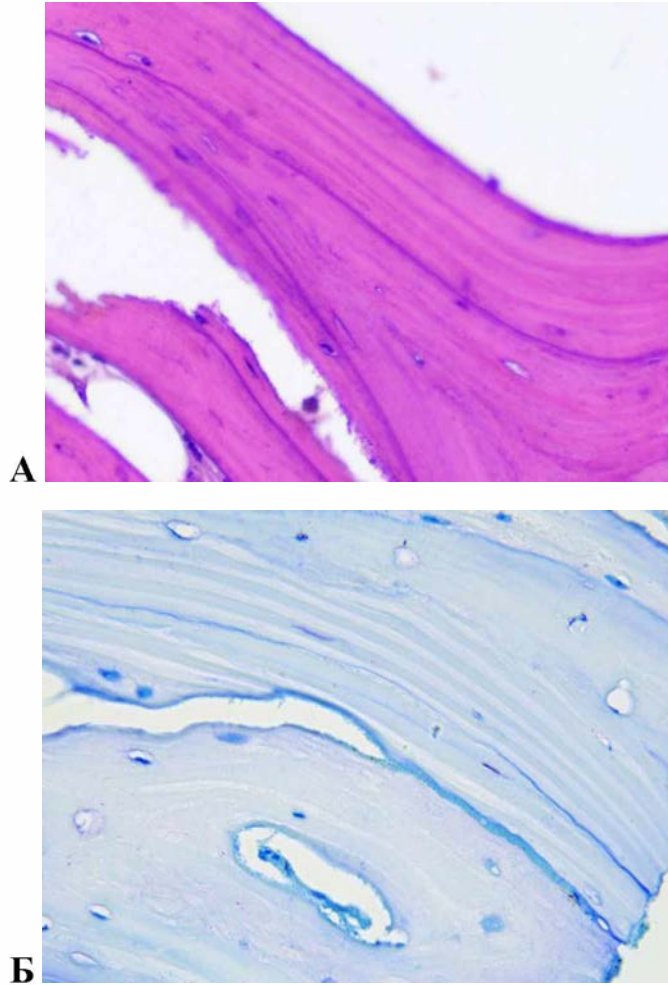


Рисунок 4.6 – Фрагменти кісткових трабекул, сформованих пластинчастою кістковою тканиною.

А – забарвлення гематоксиліном та еозином.

Б – забарвлення толуїдиновим синім. Зб. 400.

Частина трабекул значної товщини, утворених пластинчастою кістковою тканиною, містила остеони, що мали типову структуру: навколо центрального каналу розташовувалися концентрично орієнтовані кісткові пластини, утворені оксифільним матриксом, та радіально орієнтована лакунарно-каналцева

система (рис. 4.7). У деяких трабекулах, окрім остеонів, у складі визначалися залишки нанографту.

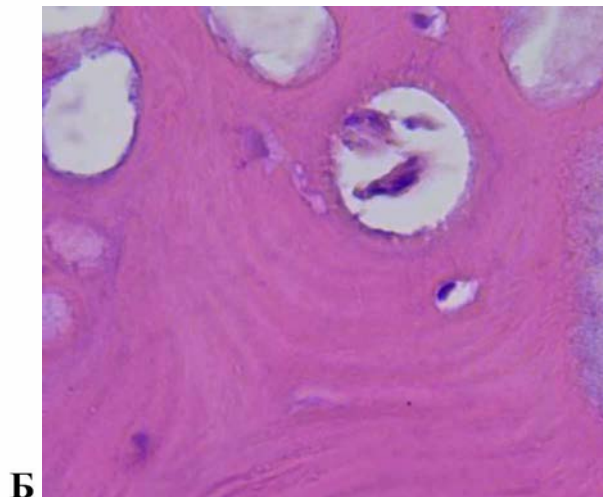
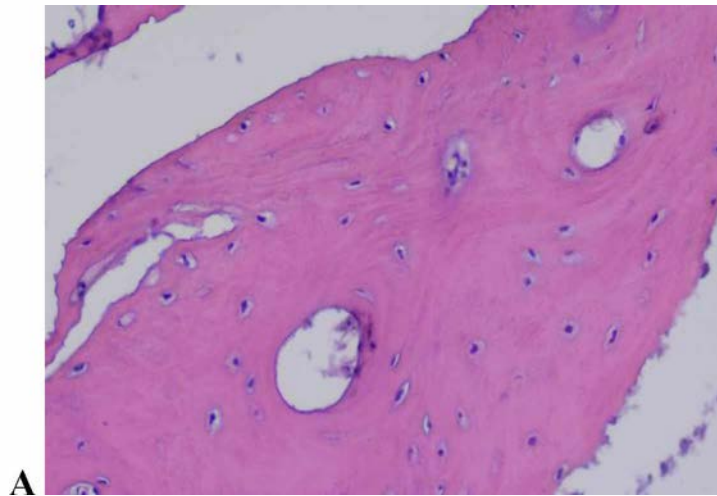


Рисунок 4.7 – Фрагмент кісткової трабекули, утвореною пластинчастою кістковою тканиною з формуванням остеонів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення А – 200, Б – 400.

За результатами оцінки складу біоптатів, отриманих з зон синусліфтингу, можна зробити висновок, що більша частина Нанографту була заміщена кістковою та сполучною тканиною.

4.2 Характеристика сполучної тканини та параметрі імуногенності біоматеріалу, використаного для аугментації

Наступним етапом визначення результатів аугментації стала оцінка сполучної тканини та виразності запальної реакції на використаний біологічний матеріал. Сполучна тканина у складі біоптатів з зони аугментації була представлена прошарками пухкої волокнистої сполучної тканини з численними клітинами фібробластичного ряду, які мали світлі овальні ядра, і були оточені матриксом багатим на основну аморфну речовину та тонкі пучки колагенових волокон. Крім того, в окремих ділянках виявлялося формування товстих пучків колагенових волокон, проте зони фіброзування визначалися рідко в локальних ділянках. При аналізі клітинного складу у сполучній тканині також визначалися макрофаги та дифузно розташовані лімфоцити, які мали кулясті щільні ядра з переважанням гетерохроматину.

Важливим компонентом сполучної тканини між кістковими трабекулами були численні кровоносні судини. Оскільки ангиогенез є критичним фактором для сталого остеогенезу, стан мікроциркуляторного русла у біоптатах зон синусліфтингу набуває особливого значення. В зоні поблизу трабекул визначалося юкстатрабекулярне розташування тонкостінних кровоносних судин, що відіграють ключову роль в забезпеченні умов для остеогенного диференціювання клітин та утворення кісткового матриксу.

Імуногістохімічне дослідження з використанням маркеру клітин ангиоваскулярної лінії – CD34, виявило, що окрім ендотеліальної вистілки численних судин, дрібні групи CD34+ визначалися дрібними скупченнями, формуючи стінку новоутворених судин з вузьким (не завжди візуалізованим) просвітом. Побачити такі судини у складі перитрабекулярної сполучної тканини можна на рисунку 4.8

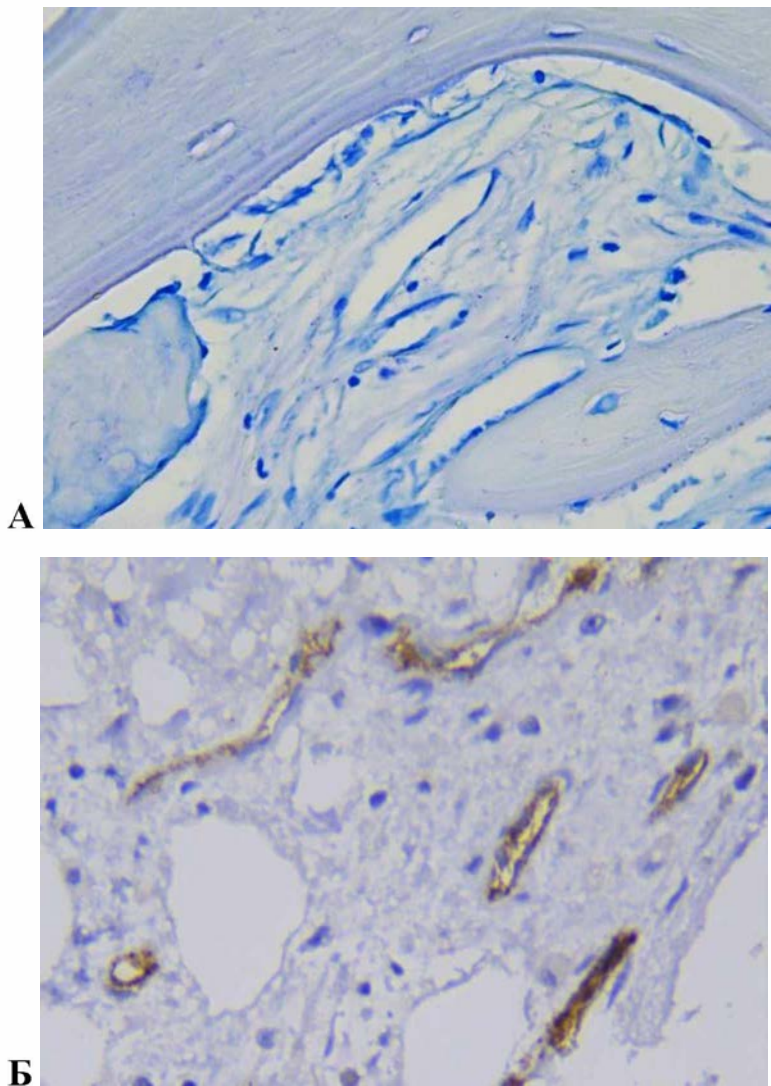


Рисунок 4.8 – Перитрабекулярна сполучна тканина з численними кровоносними судинами мікроциркуляторного русла (А), вистелені CD34+ позитивними клітинами (Б).

А – забарвлення толуїдиновим синім, Б – імуногістохімічне забарвлення з використанням моноклональних антитіл до CD34. Зб. 400

Оцінка інтенсивності запальної інфільтрації біопатів виявила переважання слабкої дифузної лімфо-гістіоцитарної інфільтрації, яка за напівкількісною шкалою відповідала слабкому ступеню інфільтрації (рисунок 4.9) і включала незначну кількість CD8+ клітин (рисунок 4.10).

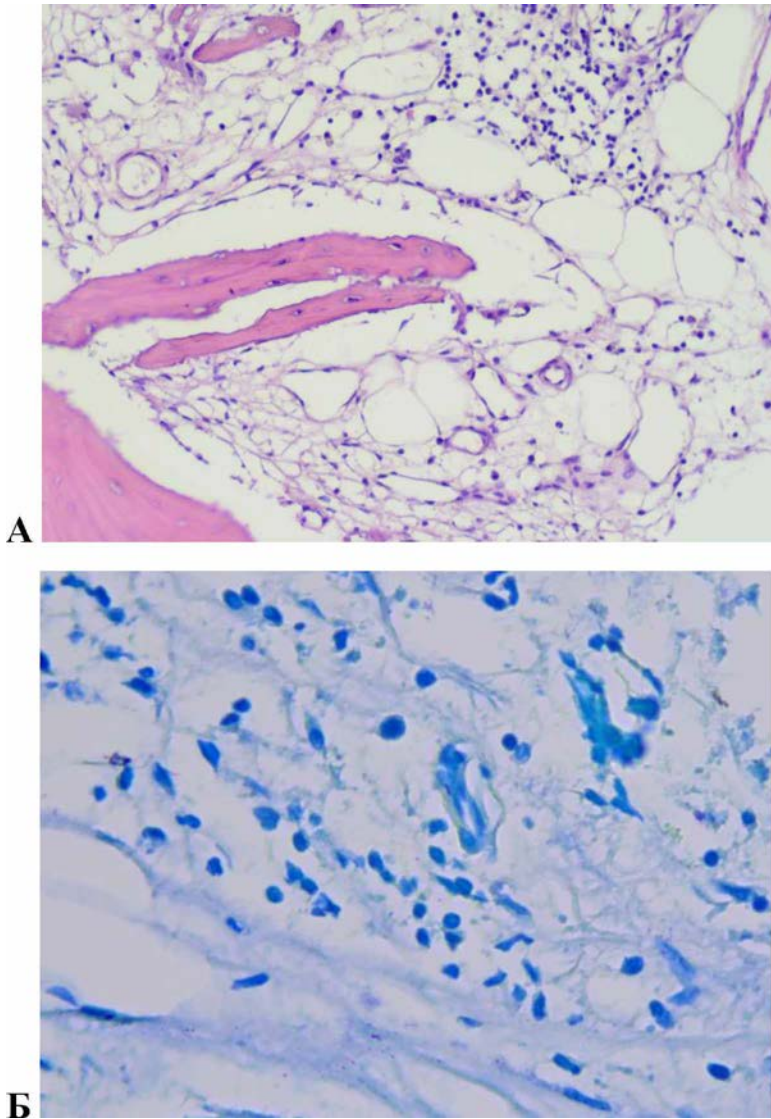


Рисунок 4.9 – Слабка лімфогістіоцитарна інфільтрація сполучної тканини у просторах між кістковими трабекулами.

А – забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 100. Б – забарвлення толуїдиновим синім, зб. 400.

Дифузно розташовані пухкі скупчення лімфоцитів та макрофагів визначалися переважно периваскулярно. При цьому не було визначено зв'язку між виразністю інфільтрації та залишками Нанографту. Аналіз клітинного складу інфільтратів при імуногістохімічному аналізі показав, що їх основним компонентом є CD8+ лімфоцити (рисунок 4.10). При цьому у складі сполучної тканини не було виявлені FOXP3+ Т-регуляторні клітини.

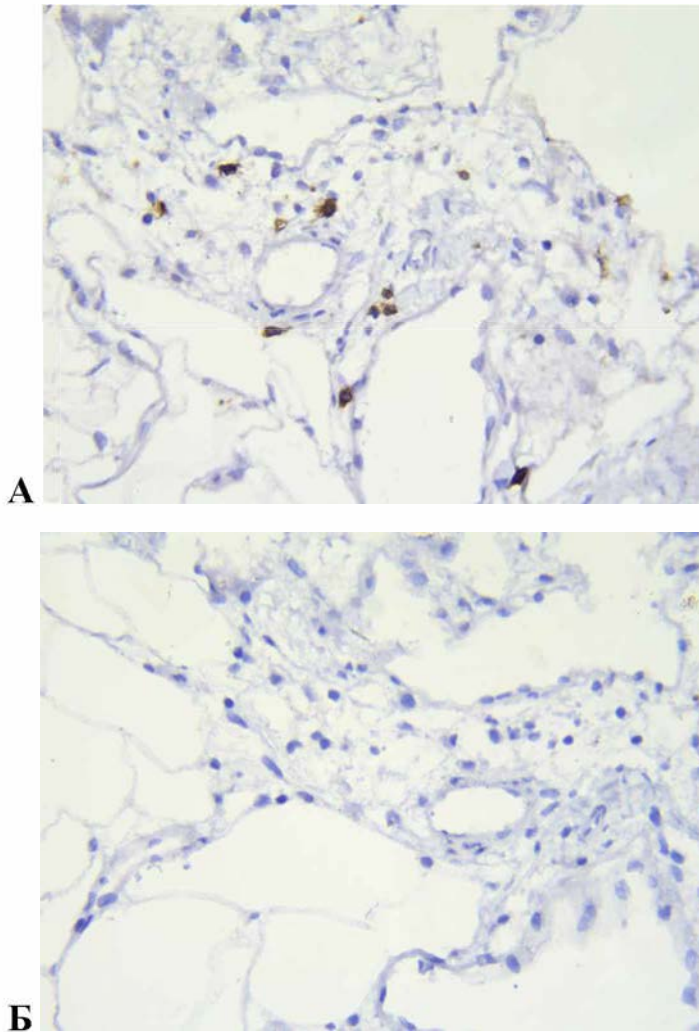


Рисунок 4.10 – Незначна кількість CD8⁺ лімфоцитів (А) у складі сполучної тканини біоптатів з зон синсусліфтингу за відсутності FOXP3⁺ Т-регуляторних клітин. Імуногістохімічне забарвлення з використанням моноклональних антитіл до CD8 та FOXP3. Зб. 400.

Дослідження структури та клітинного складу сполучної тканини дозволило виявити слабку імунну інфільтрацію, що відображає низьку імуногенність Нанографту – біоматеріалу, використаного для аугментації синусів.

4.3 Оцінка ефективності остеогенезу в зоні синусліфтингу із застосуванням аугментату з нового композитного матеріалу з ГА-ТКФ

Важливо зауважити, що інтенсивність остеогенетичних процесів у складі біоптатів, отриманих з зон синусліфтингу, була значно більш виразною, ніж реакція імунних клітин при оцінці за напівкількісною шкалою. Вираженість остеогенезу та запальної інфільтрації у біоптатах з зон аугментації синусів нанографтом відображено на рисунку 4.11, при цьому по осі абсцис – оцінювані за напівкількісними шкалами біологічні процеси, по осі ординат – результати оцінки процесів за напівкількісною шкалою.

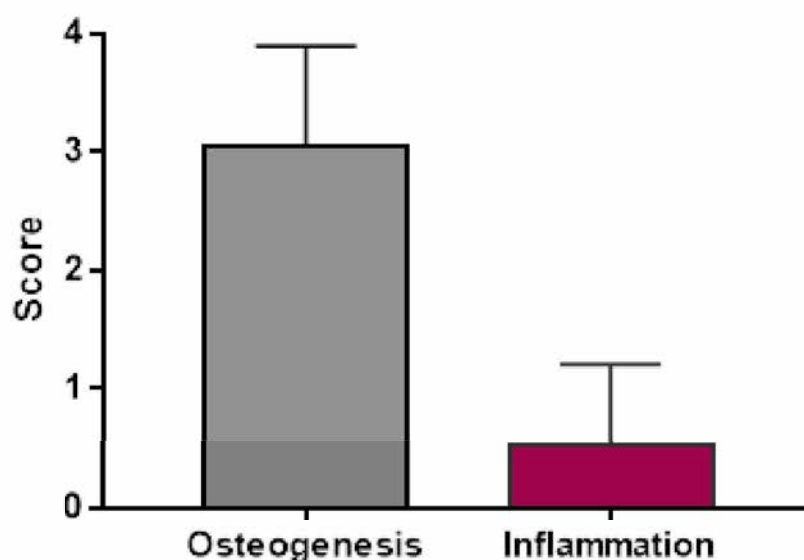


Рисунок 4.11 – Вираженість остеогенезу та запальної інфільтрації у біоптатах з зон аугментації синусів новим композитним матеріалом.

За результатами оцінки з використанням напівкількісної шкали в більшості зразків будова кісткових трабекул відповідала 3 балам відповідно до шкали оцінювання остеогенезу (таблиця 4.1), при цьому показники зрілості остеогенезу становили 3 (2; 4). Лише в незначній кількості випадків визначалися вільно розташовані залишки нанографту – їх питома вага становила 3,2% загальної площі, зайнятої кістковими трабекулами.

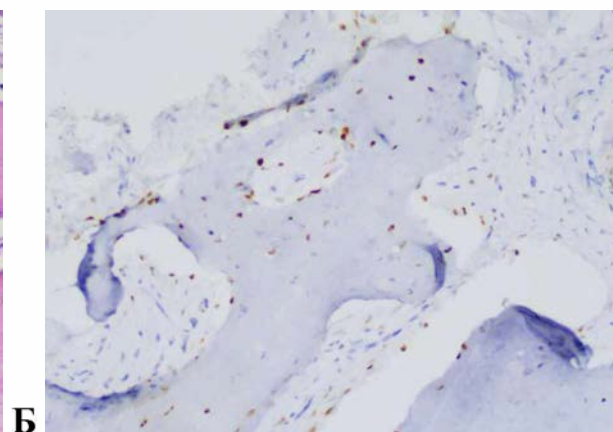
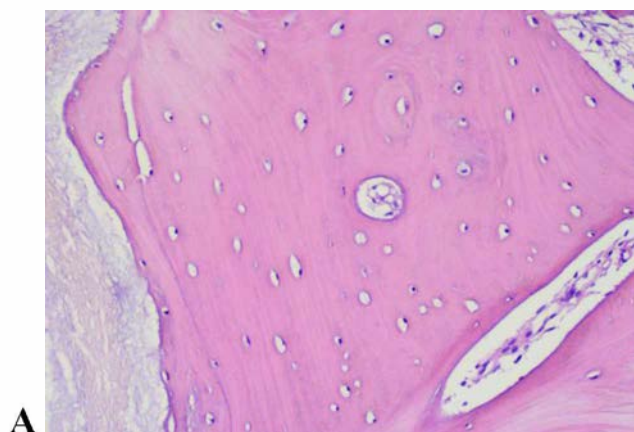
Таблиця 4.1 – Характеристики остеогенезу в біоптатах з зон аугментації синусів

	Критерії оцінки остеогенних процесів	Кількість балів	Питома вага кісткових трабекул
	Відсутні ознак остеогенезу навколо біоматеріалу	0 балів	3,2%
	Навколо або в межах графту (біоматеріалу) визначаються остеобласти та відкладення органічного матриксу (остеоїду)	1 бал	4,9%
	Визначається утворення ретикулофіброзної (первинної) кісткової тканини навколо або в матеріалі графту з остеобластами та остеоцитами, при наявності ознак початкового ремоделювання кістки.	2 бали	21,3%
	Визначається утворення пластинчастої кісткової тканини навколо або в матеріалі графту з первинними остеонами, остеоцитами та судинами. При цьому присутні залишки ретикулофіброзної кістки та/або біоматеріалу всередині кісткових трабекул.	3 бали	43,0%
	Визначається зріла пластинчаста (вторинна) кістка з дрібними залишками кісткового замітника, поява справжніх остеонів і цементних ліній	4 бали	27,6%

Морфологічні характеристики тканин біоптатів свідчили про ініціацію механізмів прямого остеогенезу у зоні аугментації. У біоптатах всіх досліджених випадків виявлено сплетіння кісткових трабекул. Трабекули були оточені сполучною тканиною з численними судинами. Кісткові трабекули відрізнялися за товщиною та архітектурою у різних пацієнтів, однак вони продемонстрували ознаки прямого остеогенезу з первинним утворенням кістки навколо залишків композитного матеріалу та поза ними.

Аналогічно рідко виявлялися осередки біоматеріалу, оточені остеїдом та остеобластами (4,9%, що відповідають за продукцію органічної матриці міжклітинної речовини кісткової тканини та її подальшу мінералізацію. Майже в 5 разів більшу площу (21,3%) займали трабекули утворені грубоволокнистою кісткою. Важливо відзначити, що більшість таких трабекул мали ознаки активного ремоделювання з залученням остеокластів, що резорбували ділянки кістки та активним рекрутингом преостеобластів та остеобластів, позитивних на маркер остеогенного диференціювання SATB2 (рис. 4.12).

Переважну кількість (43,0%) представляли трабекули, утворені пластинчастою кістковою тканиною, хоча наявність остеонів виявлялася тільки у 27,6%.



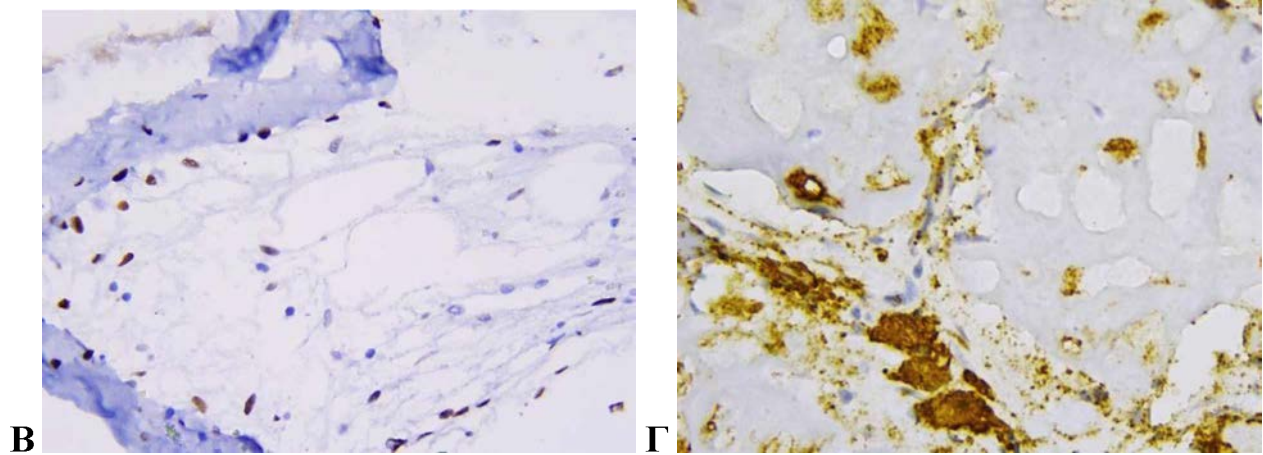


Рисунок 4.12 – Ремодельовання кістки у складі біоптатів з зони синусліфтингу (А) з значною кількістю SATB2+ (Б, В) та CD68+ (Г) клітин.

А - забарвлення гематоксилином та еозином, Зб. 100, Б-Г – імуногістохімічне дослідження з використанням МАТ до SATB2+ (Б, В) та CD68+ (Г).

Зб. 200 (Б) та 400 (В, Г)

Співставлення чисельності клітин різних ліній, включаючи остеогенні (остеобласти та преостеобласти – SATB2-позитивні), ангіогенні (CD34-позитивні ендотеліоцити), CD68+-клітини, що включали макрофаги та остеобласти, а також Т-цитотоксичні (CD8-позитивні) лімфоцити дозволяє стверджувати, що аугментація синусів біоматералу на основі нового композитного матеріалу ГА-ТКФ має біостимулюючий ефект на остеогенез. Співвідношення чисельності клітин різних ліній у складі біоптатів з зони аугментації синусів відображено на рисунку 4.13, де по осі абсцис знаходяться біомаркери різних клітинних ліній, по осі ординат – шкала напівкількісної оцінки чисельності клітин.

Примітка: SATB2 – маркер клітин остеогенної лінії (остеобласти та преостеобласти), CD34 – маркер ангіогенних клітин (ендотеліоцити), CD68 – маркер макрофагів, також експресується в остеокластах, CD8 – маркер Т-цитотоксичних лімфоцитів.

Використання нового композитного матеріалу призводило до ефективного остеогенезу в зоні синусліфтингу з активним ремодельованням

кістки та ангіогенетичними процесами, що відбиває остеоіндуктивний та остеостимулюючий ефект біоматеріалу. Характерно, що SATB2-позитивні клітини визначалися не тільки на поверхні кісткових трабекул, що формуються, а й в оточуючій сполучній тканині з кровоносними судинами. Цей феномен по суті відбивати активне остеогенне диференціювання клітин-попередниць скелетогенної лінії, передумовою якого є високий парціальний тиск кисню, що забезпечується відповідним ангіогенезом та кровопостачанням.

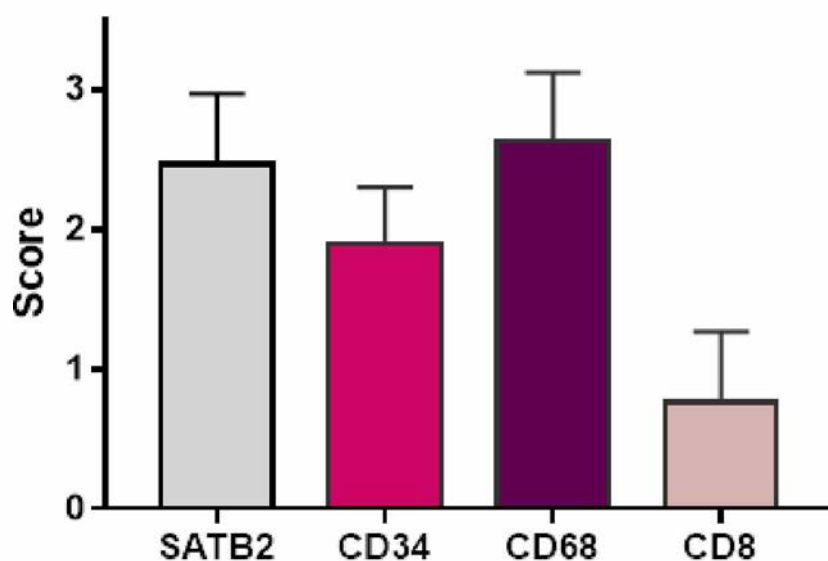


Рисунок 4.13 – Співвідношення чисельності клітин різних ліній у складі біоптатів з зони аугментації синусів.

Аналіз клітинного складу біоптатів також свідчив про імунологічну інертність нового композитного матеріалу ГА-ТКФ, використання якого супроводжувалося слабкою реакцією CD8+лімфоцитів та M2-поляризацією макрофагів. Характерно, що сполучна тканина була багата на макрофаги, серед яких значну кількість представляли CD163+-клітини, що за фенотипом відносяться до M2-протизапальних макрофагів. CD163+ клітини формували щільну сітку, що пронизувала ділянки навколо трабекул та кровоносних судин (рисунок 4.14).

Оскільки даний тип макрофагів відноситься до протизапального типу макрофагів, здатних продукувати широкий спектр факторів росту, вірогідно

саме їх присутність у значній кількості забезпечувала переважання процесів остеогенезу та толерантність до біоматеріалу, використаного для відкритого синусліфтингу.

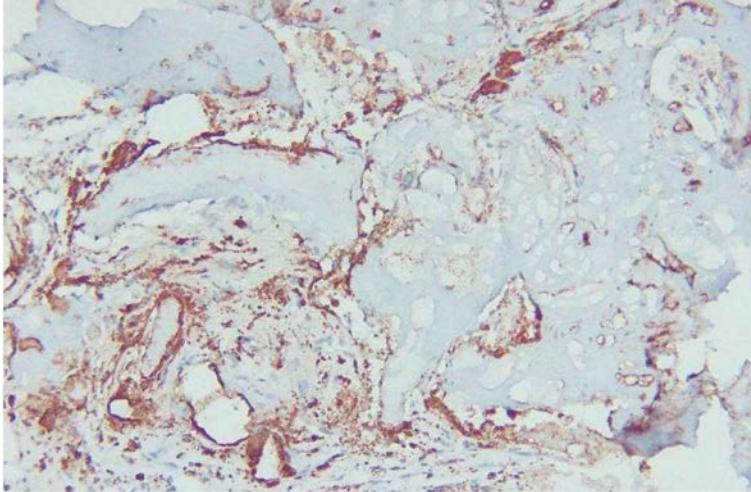


Рисунок 4.14 – Значна кількість M2-макрофагів у складі сполучної тканини біоптатів з зон аугментації синусів. Імуногістохімічне забарвлення з використанням моноклональних антитіл до CD163. Зб. 100.

Оцінка будови фрагментів з зон аугментації виявило ознаки ефективного остеогенезу. Використаний для синусліфтингу біоматеріал продемонстрував біостимулюючий (остеоіндукуючий) ефект. Аугментація синусів новим композитним матеріалом ГА-ТКФ призводила до стимуляції остеогенного диференціювання клітин та активного остеогенезу з ознаками ремоделювання та заміщення грубоволокнистої фіброзної кістки пластинчастою кістковою тканиною з утворенням остеонів.

Резюме до розділу 4

Морфологічна оцінка результатів аугментації дозволила виявити наявність ознак активного остеогенезу в зонах інтересу. Значні ділянки біоптатів були сформовані розгалуженими кістковими трабекулами, товщина яких варіювала від 20 до 190 мкм. В межах кісткових трабекул визначалися

ділянки нового композитного матеріалу ГА-ТКФ, що мали вигляд глибок (гранул) і з усіх боків були оточені новоутвореною кістковою тканиною. Крім того, у деяких зразках визначалися вільно розташовані залишки ГА-ТКФ, а також частково оточені кістковою тканиною осередки біоматеріалу. Ділянки між кістковими трабекулами були заповнені сполучною тканиною з численними судинами мікроциркуляторного русла.

Аналіз будови кісткових трабекул виявив гетерогенність їх гістологічної структури: частина трабекул була представлена переважно грубоволокнистою (ретикулофіброзною) кістковою тканиною. Кісткові трабекули, що утворювали між собою анастомози, характеризувалися варіабельністю товщини, на їх поверхні визначалися переважно остеобласти, які формували суцільний шар, в інших ділянках – виявлялися зони резорбції з розташованими на поверхні трабекул остеокластами.

За результатами оцінки складу біоптатів, отриманих з зон синусліфтингу, можна зробити висновок, що більша частина нового композитного матеріалу ГА-ТКФ була заміщена кістковою та сполучною тканиною.

Дослідження структури та клітинного складу сполучної тканини дозволило виявити слабку імунну інфільтрацію, що відображає низьку імуногенність нового композитного матеріалу ГА-ТКФ – біоматеріалу, використаного для аугментації синусів.

Морфологічні характеристики тканин біоптатів свідчили про ініціацію механізмів прямого остеогенезу у зоні аугментації. У біоптатах всіх досліджених випадків виявлено сплетіння кісткових трабекул. Трабекули були оточені сполучною тканиною з численними судинами. Кісткові трабекули відрізнялися за товщиною та архітектурою у різних пацієнтів, однак вони продемонстрували ознаки прямого остеогенезу з первинним утворенням кістки навколо залишків нового композитного матеріалу ГА-ТКФ та поза ними.

Аналогічно рідко виявлялися осередки біоматеріалу, оточені остеїдом та остеобластами (4,9%), що відповідають за продукцію органічної матриці міжклітинної речовини кісткової тканини та її подальшу мінералізацію. Майже

в 5 разів більшу площу (21,3%) займали трабекули утворені грубоволокнистою кісткою. Важливо відзначити, що більшість таких трабекул мали ознаки активного ремоделювання з залученням остеокластів, що резорбували ділянки кістки та активним рекрутингом преостеобластів та остеобластів, позитивних на маркер остеогенного диференціювання SATB2.

Використання нового композитного матеріалу ГА-ТКФ призводило до ефективного остеогенезу в зоні синусліфтингу з активним ремоделюванням кістки та ангіогенетичними процесами, що відбиває остеоіндуктивний та остеостимулюючий ефект біоматеріалу. Характерно, що SATB2-позитивні клітини визначалися не тільки на поверхні кісткових трабекул, що формуються, а й в оточуючій сполучній тканині з кровоносними судинами. Цей феномен по суті відбивати активне остеогенне диференціювання клітин-попередниць скелетогенної лінії, передумовою якого є високий парціальний тиск кисню, що забезпечується відповідним ангіогенезом та кровопостачанням.

Аналіз клітинного складу біоптатів також свідчив про імунологічну інертність нового композитного матеріалу ГА-ТКФ, використання якого супроводжувалося слабкою реакцією CD8+лімфоцитів та M2-поляризацією макрофагів. Характерно, що сполучна тканина була багата на макрофаги, серед яких значну кількість представляли CD163+-клітини, що за фенотипом відносяться до M2-протизапальних макрофагів. CD163+ клітини формували щільну сітку, що пронизувала ділянки навколо трабекул та кровоносних судин. Оскільки даний тип макрофагів відноситься до протизапального типу макрофагів, здатних продукувати широкий спектр факторів росту, вірогідно саме їх присутність у значній кількості забезпечувала переважання процесів остеогенезу та толерантність до біоматеріалу, використаного для відкритого синусліфтингу.

Оцінка будови фрагментів з зон аугментації виявило ознаки ефективного остеогенезу. Використаний для синусліфтингу біоматеріал (ГА-ТКФ) продемонстрував біостимулюючий (остеоіндукуючий) ефект. Аугментація синусів новим композитним матеріалом ГА-ТКФ призводила до стимуляції

остеогенного диференціювання клітин та активного остеогенезу з ознаками ремоделювання та заміщенням грубоволокнистої фіброзної кістки пластинчастою кістковою тканиною з утворенням остеонів.

Основні положення цього розділу опубліковані в 2-х статтях та 3 тезах

1. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення структурного складу біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів за допомогою матеріалу Нанографт (NanoGraft) / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. Патологія. 2025.Т. 22, № 2(64).С. 141-147. DOI: 10.14739/2310-1237.2025.2.333002 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
2. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення імуногенності біоматеріалу Нанографт (NanoGraft) із зони аугментації верхньощелепних синусів / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. Запорізький медичний журнал. 2025. Т. 27, № 6(153). С. 487-494 DOI: 10.14739/2310-1210.2025.6.335692 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
3. Морфологічний аналіз якості кісткового регенерату в зоні аугментації нового HA/B-TCP/ О.С. Косінов //XXIV International scientific and practical conference “Information and innovative

technologies in education in modern conditions” : Матер. наук.-практ. конф. (Варна, Болгарія, 20-13.06.2023). – С.157-158.

4. Гістоморфометричний аналіз кісткової тканини, отриманої за допомогою аугментації нанографт/ О.С. Косінов // Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” : Матер. наук.-практ. конф. (Полтава, 16.06.2023). – С. 57-58.
5. Гістоморфометричний аналіз кісткової тканини, отриманої за допомогою аугментації нанографт/ О.С. Косінов // Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” : Матер. наук.-практ. конф. (Полтава, 16.06.2023). – С. 57-58.

РОЗДІЛ 5

КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ НОВОГО СИНТЕТИЧНОГО КІСТКОВОГО КОМПОЗИТУ ГА-ТКФ

Терміни проведення імплантації варіювали в діапазоні від 6,5 до 34 місяців після аугментації та були переважно зумовлені індивідуальними обставинами пацієнтів, включно з необхідністю адаптації до загального стану здоров'я, особистими уподобаннями та іншими факторами лікувального планування. Медіана часового проміжку після проведення аугментації склала 9,50 місяців із міжквартильним розмахом (8,00; 11,75), що свідчить про тенденцію до планування імплантації в межах стандартних клінічних рекомендацій після процедур регенерації кісткової тканини. Розподіл термінів експозиції після аугментації представлено у вигляді гістограми на рисунку 5.1, де спостерігається асиметричний розподіл із переважанням коротших періодів очікування.

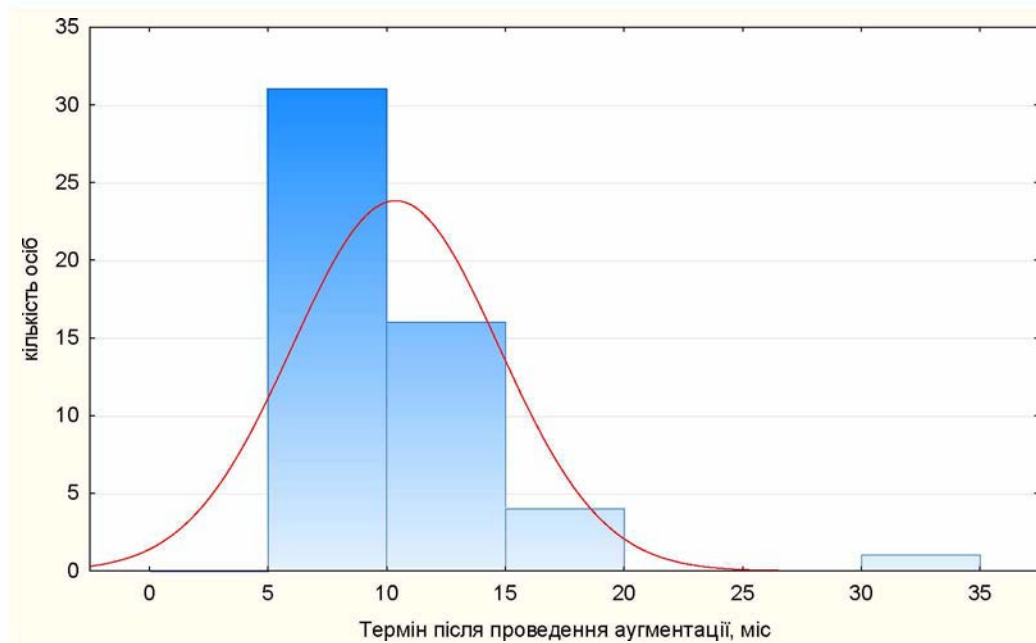


Рисунок 5.1 – Гістограма терміну після проведення аугментації.

Проведений статистичний аналіз встановив, що вказані часові проміжки експозиції не мали достовірного впливу на основні морфологічні та механічні критерії якісної оцінки новоствореної кісткової тканини. При визначенні типу кісткової тканини за класифікацією Misch (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,072$; $p > 0,05$), оцінці однорідності (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,174$; $p > 0,05$), кровоточивості (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,036$; $p > 0,05$) та щільності тканини (коефіцієнт кореляції Спірмена $R = 0,084$; $p > 0,05$), а також при аналізі торків при установці дентальних імплантатів (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,154$; $p > 0,05$) не було виявлено статистично значущих відмінностей залежно від термінів експозиції матеріалу. Це вказує на те, що стабільність властивостей регенерованої кісткової тканини зберігалася незалежно від часу імплантації в межах досліджуваного інтервалу.

Було також встановлено, що об'єм аугментованої ділянки залишався стабільним протягом усього періоду спостереження, що є типовим для синтетичних кісткових композитів на основі кальцій-фосфатних матеріалів із низькою швидкістю резорбції. Окрім цього, протягом усього періоду не спостерігалось ознак вираженої запальної реакції чи гіпертрофії мембрани Шнайдера, що свідчить про хорошу біосумісність застосованих матеріалів навіть у віддалені терміни після імплантації. Збереження стабільного об'єму та відсутність негативних реакцій тканин є важливими клінічними факторами, які забезпечують успішну інтеграцію імплантатів та довгострокову стабільність результатів лікування.

5.1. Визначення типу новоутвореної кісткової тканини

Для оцінки якості кісткового аугментату була виконана оцінка типу кістки за K.Misch. Дослідження проводили в порівнянні з аналогічними показниками власної кістки пацієнта з тієї ж області та/або прилеглих областей, оскільки подібна оцінка є найбільш об'єктивною і точною з точки зору

поліпшення умов для імплантації на верхній щелепі в цілому. Одержані результати із визначенням типу кістки наведені у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Порівняння розподілу пацієнтів за типом кістки в групах аугментацій та кісток.

Тип кістки за К.Misch:	Група аугментації, n=52	Група кісток, n=67	P-значення при порівнянні груп
2	25/48,08	7/10,45	<0,0001
3	27/51,92	50/74,63	0,0101
4	0/0,0	10/14,92	0,0036

Аналіз даних виявив, що у групі аугментованої тканини переважає другий та третій тип кісткової тканини за К. Misch, тоді як у групі власної кістки пацієнтів домінував третій тип із частковою присутністю четвертого типу. Слід зазначити, що другий і третій типи кісткової тканини вважаються найбільш сприятливими для встановлення дентальних імплантатів, оскільки поєднують хорошу васкуляризацію з достатньою щільністю для забезпечення надійної первинної стабільності імплантатів. Первинна фіксація є одним із визначальних факторів успіху імплантації, а наявність якісної новоутвореної кісткової тканини значно підвищує прогнозованість клінічних результатів.

Варто також відзначити, що кількісний розподіл типів 2 і 3 у групі аугментації був майже рівномірним (48%:52%), що вказує на стабільність процесів ремоделювання новоствореної кістки. Цей факт додатково підтверджується відсутністю у групі аугментату четвертого типу кісткової тканини за Misch, який вважається менш придатним для імплантації через надмірну пористість і знижену механічну міцність, що ускладнює досягнення належного рівня первинної стабільності імплантату.

Розподіл типів 2, 3 і 4 у групі власної кістки (10,45%, 74,63% та 14,92% відповідно) відображає природну неоднорідність структури альвеолярного

відростка верхньої щелепи. Це ускладнює планування імплантації, однак повністю співвідноситься з відомими даними про анатомо-фізіологічні особливості верхньої щелепи, де переважає менш щільна, пориста кісткова тканина.

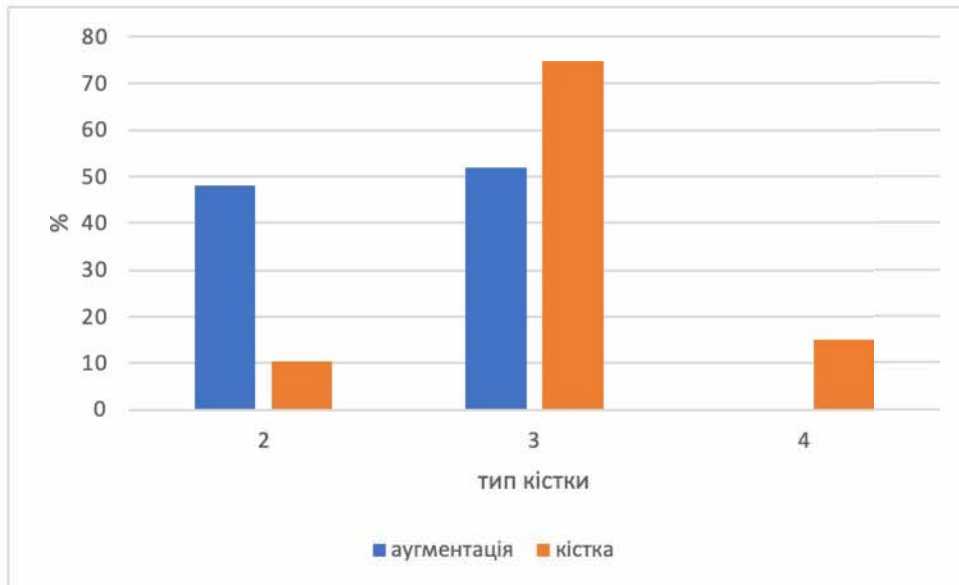


Рисунок 5.2 – Поширеність типів кістки за Misch

Таким чином, аналізуючи в порівнянні якісну будову аугментату та власної кістки, взятих у пацієнта з однієї й тієї ж області можна побачити, що показники, які відповідають за щільність та рівномірність, мають виражену тенденцію до зміщення у бік новоствореної кістки на основі кісткового композиту (ГА-ТКФ).

5.2. Рентгенографічне визначення щільності кістки

Метод комп'ютерної томографії (КТ) дозволяє отримати об'єктивну кількісну характеристику щільності кісткової тканини у будь-якій заданій точці аугментованої ділянки або власної кістки пацієнта. Саме тому цей метод було обрано для проведення відповідних вимірювань у дослідженні. Заміри виконувалися безпосередньо у зонах інсталяції імплантатів, що забезпечувало високу клінічну релевантність отриманих даних. Оскільки імплантаційне ложе, при його створенні, проходило через обидві структури — аугментат і власну

кістку пацієнта, — це дало змогу сформувати дві чіткі групи для порівняння щільності тканин та провести об'єктивний аналіз безпосередньо в кожного пацієнта. Показники щільності тканин власної кістки та аугментату наведені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2 – Показники щільності кісткової тканини

Показник	Група аугментації, n=52	Група кісток, n=67	P-значення при порівнянні груп
Усереднена щільність тканини, HU (M±SD)	1132,596±334,887	482,612±236,916	<0,0001

Аналіз густинних характеристик показав, що середня щільність кісткової тканини в зоні аугментації становила 1132,596±334,887 HU, що в 2,35 разів перевищує показник власної кістки пацієнта на аналогічній ділянці, де середня щільність становила 482,612±236,916 HU. Різниця між групами була статистично значущою ($p < 0,0001$), що свідчить про істотні відмінності у структурній організації тканини.

Тенденція до збільшення щільності новоутвореної кістки у порівнянні з власною може бути пояснена перенасиченням зони аугментації гідроксиапатитними матеріалами, які характеризуються високою рентгенологічною щільністю. Під час ремоделювання кісткової тканини, за умов застосування матеріалів із високою мінералізацією, можливе формування більш щільних, але менш впорядкованих трабекулярних структур, що відзначається хаотичною побудовою мікроархітектури новоутвореної тканини.

Усереднена щільність кісткової тканини відображена в рисунку 5.3.

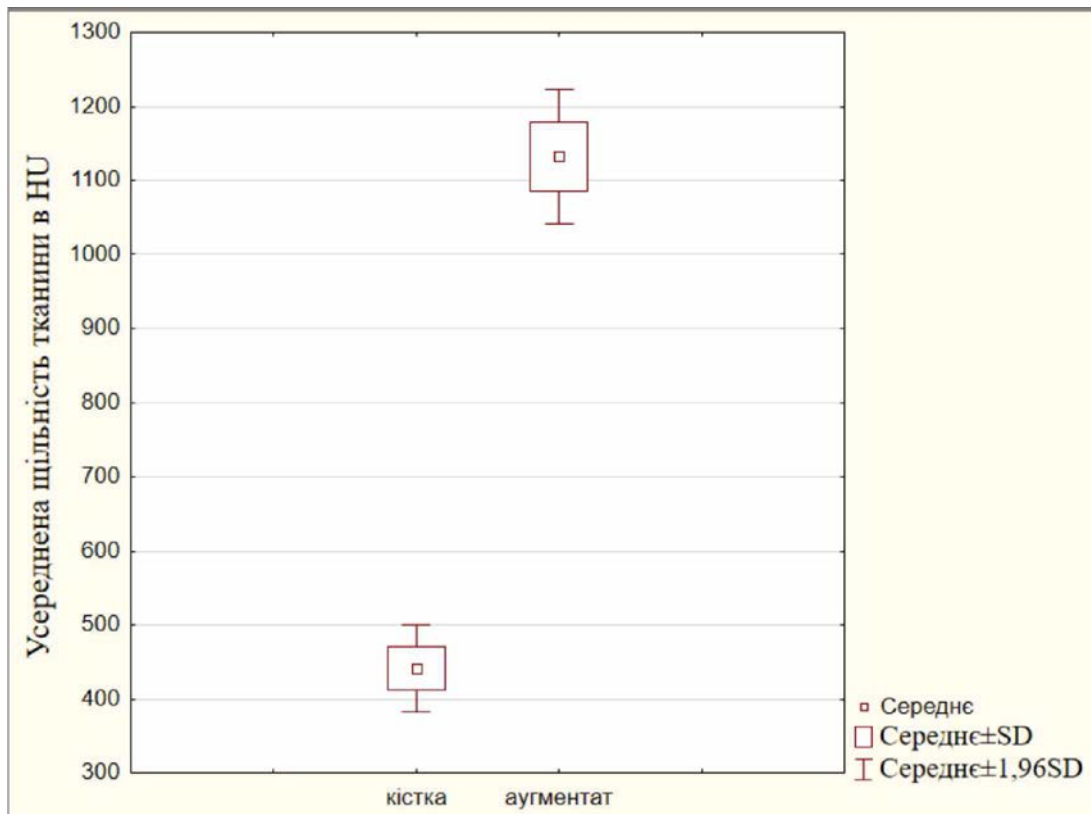


Рисунок 5.3 – Порівняння усередненої щільності тканини в групах кістки і аугментату

Характеристики щільності кісткової тканини мають вирішальне значення для успіху проведення дентальної імплантації, оскільки вони безпосередньо впливають на досягнення первинної стабільності імплантату, швидкість процесів остеоінтеграції та довгострокову стабільність клінічних результатів.

З огляду на це, щільність кісткової тканини була обрана нами одним із ключових критеріїв оцінки ефективності кісткової аугментації поряд із рівномірністю мікроархітектури та якістю місцевого кровопостачання.

Розглядаючи ситуацію з точки зору підвищення якісних характеристик кістки для забезпечення позитивного прогнозу імплантації, можна стверджувати, що проведення субантральної аугментації із застосуванням синтетичного кісткового композиту на основі гідроксиапатиту та трикальційфосфату (ГА-ТКФ) призводить до суттєвого покращення щільності новоствореної кістки. Зокрема, за даними комп'ютерної томографії, щільність

аугментованої тканини була в 2,35 разів вищою порівняно з власною кісткою пацієнта на відповідних ділянках.

Ці результати підтверджують, що використання синтетичних матеріалів на основі ГА-ТКФ сприяє формуванню кісткової тканини з високим ступенем мінералізації, що є важливим чинником для успішної імплантації в умовах обмеженого об'єму чи якості вихідної кісткової основи. Отримані дані також узгоджуються з літературними джерелами, де підкреслюється значення підвищеної щільності новоутвореної кістки для покращення параметрів торку при установці імплантатів та прискорення процесів остеоінтеграції.

5.3. Визначення якості кісткового аугментату за клінічними критеріями під час інсталяції імплантату

Окрім оцінки щільнісних характеристик, визначення якості кісткової тканини передбачає обов'язкове врахування її мікроархітектурних особливостей, зокрема рівномірності побудови трабекулярної структури та ступеня васкуляризації. Ці два показники є критичними для успішного перебігу процесів інтеграції встановленого імплантату з навколишньою тканиною, оскільки забезпечують адекватну доставку поживних речовин, кисню і клітин до місця остеоінтеграції.

Під час інсталяції імплантатів здійснювався аналіз кровоточивості кістки в області імплантаційного ложа. Оцінка проводилася за інтенсивністю кровотечі, що виникала при засвердлюванні останньою фрезою як із зони аугментату, так і з прилеглих ділянок власної кістки пацієнта. Виражена кровоточивість у зоні аугментату спостерігалася у 67,3% випадків, що свідчить про добрий рівень неоангіогенезу в регенерованій тканині. Слабка кровотеча була зафіксована у 32,7% обстежених пацієнтів.

Для порівняння, у власній кістковій тканині пацієнтів інтенсивна кровотеча визначалася у 47,8% випадків, тоді як слабка кровоточивість — у 52,2%. Таким чином, рівень інтенсивної кровотечі у зоні аугментату був на 19,5% вищим порівняно з власною кісткою (різниця статистично значуща,

$p=0,0334$), що свідчить про покращення васкуляризації новоутвореної кістки внаслідок застосування синтетичного кісткового композиту на основі гідроксиапатиту та трикальційфосфату (ГА-ТКФ).

Результати дозволяють стверджувати, що субантральна аугментація із використанням синтетичного композиту покращує якість кісткової тканини шляхом збільшення ступеня її васкуляризації на 19,5% порівняно із власною кісткою пацієнта, що має позитивне значення для прогнозу імплантації. Показники кровоточивості в області імплантаційного ложа представлені на рисунку 5.4.

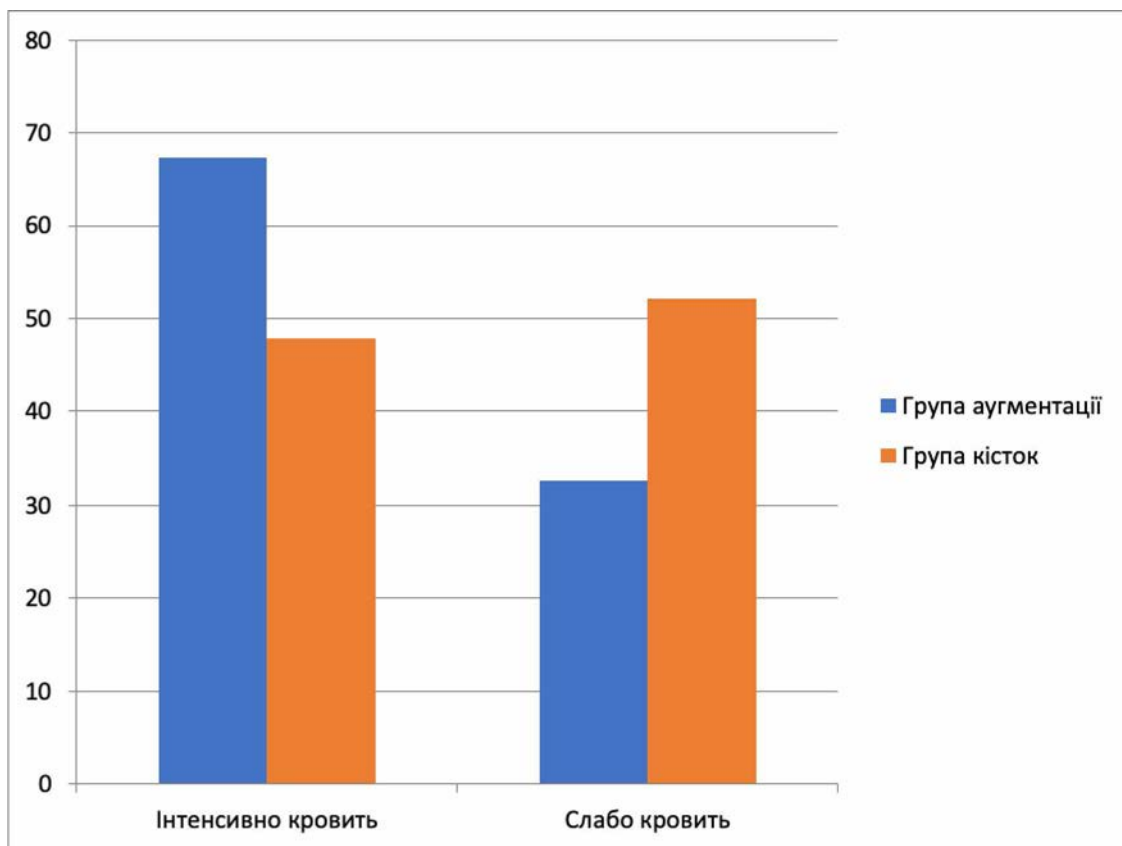


Рисунок 5.4 – Порівняння інтенсивності васкуляризації імплантаційного ложа в групах.

Наступним важливим клінічним критерієм оцінки якості аугментату стала рівномірність структури кістки під час формування імплантаційного ложа. Особливу увагу приділяли наявності або відсутності неорганізованих фрагментів матеріалу, що могли бути виявлені під час промивання ложа

антибіотичним розчином. Відсутність таких фрагментів розглядалася як позитивний показник, який свідчить про високий ступінь інтеграції матеріалу та завершення основних етапів ремоделювання кісткової тканини.

Поєднання високої та рівномірної щільності з вираженою кровоточивістю кісткової тканини в області проведеної аугментації є показником високого ступеня організації кісткової тканини. Наявність «провалів» у структурі кістки може бути ознакою низького ступеня організації кісткових структур на цій ділянці, що ускладнює протокол інсталяції імплантату і ускладнює прогноз термінів та якості інтеграції як такої.

Рівномірність кісткових структур при підготовці імплантаційного ложа визначали при кожному засвердлюванні мануально, а також за показниками торка інструменту, що обертається.

Рівномірність консистенції аугментата та власної кістки пацієнта відображена на рисунку 5.5

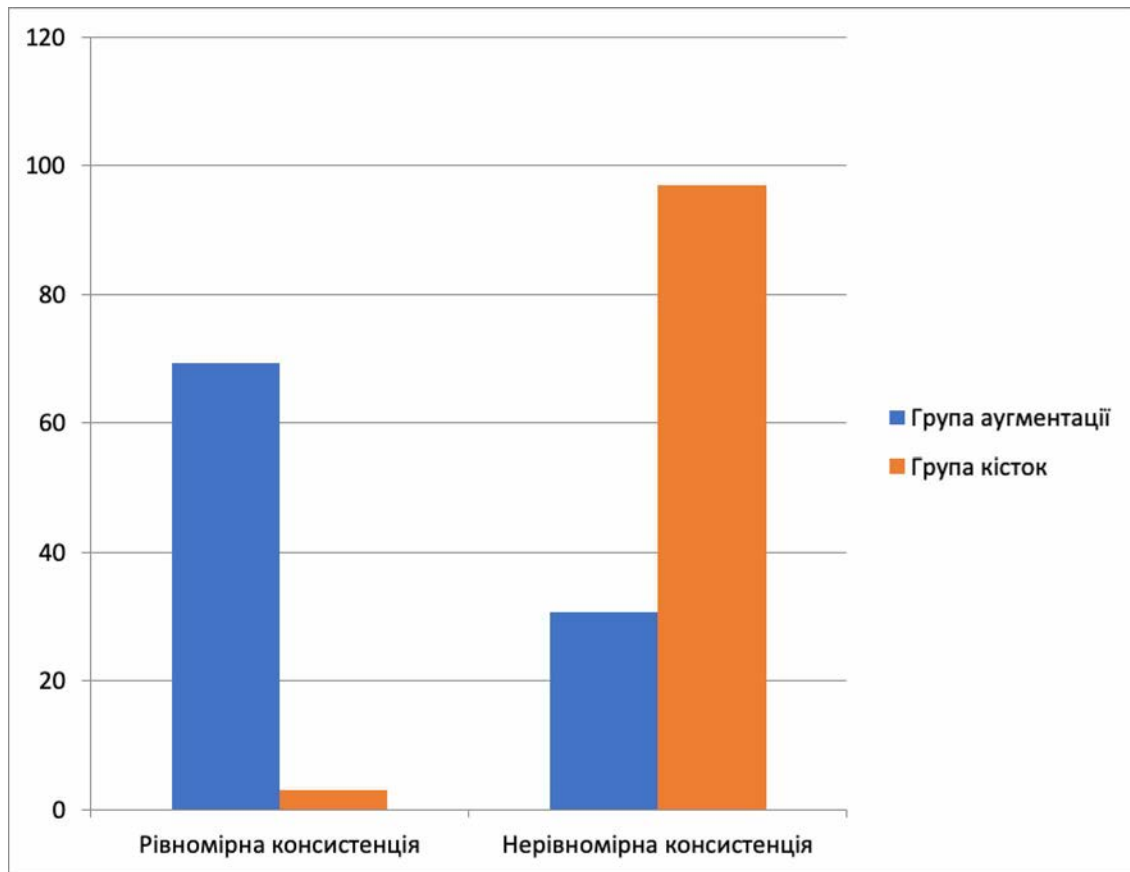


Рисунок 5.5 – Рівномірність консистенції кісткових структур

При аналізі показників рівномірності структури кісткової тканини в зоні аугментації встановлено, що у 69,2% випадків новостворена кісткова тканина мала рівномірну архітектуру, яка є важливою передумовою для успішної остеointegraції імплантатів. Для порівняння, у зоні власної кістки пацієнтів цей показник становив лише 3,0%, що свідчить про значну перевагу регенованої тканини над природною у контексті параметрів структурної однорідності.

Високий відсоток нерівномірної будови власної кістки (97,0%) є цілком закономірним і повністю узгоджується із загальновідомими анатомо-фізіологічними особливостями верхньої щелепи, яка характеризується значною пористістю, наявністю ділянок компактної та губчастої кісткової тканини з нерівномірним розподілом щільності (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Показники кровоточивості та рівномірності консистенції

Показник	Група аугментації, n=52	Група кісток, n=67	P-значення при порівнянні груп
Рівномірна консистенція, n/%	36/69,2	2/3,0	<0,0001
Нерівномірна консистенція, n/%	16/30,8	65/97,0	<0,0001
Інтенсивно кровить, n/%	35/67,3	32/47,8	0,0334
Слабо кровить, n/%	17/32,7	35/52,2	0,0334

Оцінюючи рівномірність структури новоствореної кісткової тканини як важливий показник успішності імплантації, можна зробити висновок, що застосування синтетичного кісткового композиту на основі ГА-ТКФ дозволяє

покращити рівномірність мікроархітектури кісткової тканини на 66,2% порівняно з вихідним станом власної кістки. Такий результат є особливо важливим для підвищення ефективності імплантації, оскільки рівномірна структура забезпечує прогнозовану поведінку матеріалу під навантаженням і сприяє рівномірному розподілу механічних сил після встановлення імплантату.

Як показники кровоточивості, так і рівномірності структури продемонстрували статистично значущі відмінності між групами аугментованої тканини і власної кістки пацієнта.

5.4. Показники торка при інсталяції імплантату, що забезпечують первинну фіксацію як фактор успішної інтеграції

Величина оберտального моменту (торку) при інсталяції дентального імплантату є критично важливим параметром, який визначає ступінь компресії кісткової тканини навколо імплантату та створення необхідного механічного контакту між його поверхнею та навколишньою кісткою. Згідно із законом Вольфа, локальні напруги в кістковій тканині стимулюють процеси адаптивного ремоделювання, а швидкість та ефективність цих процесів безпосередньо залежать від величини напруги і напружено-деформованого стану в місцях встановлення імплантатів. Під час інсталяції імплантатів у кістковій тканині щелеп виникають зони локальної концентрації напруг, рівень яких корелює як із величиною прикладеного оберտального моменту, так і з морфологічними особливостями щелепної кістки – зокрема, товщиною кортикального шару та якістю трабекулярної структури. Відомо, що зменшення товщини кортикального шару кістки призводить до зростання локальних напруг при однаковому рівні торку, що може збільшувати ризик мікропошкоджень та впливати на остеointegraцію.

Клінічно прийнятним вважається, що для досягнення необхідного рівня первинної стабільності імплантату обертальний момент має бути не менше 35–40 Н·см. Значення торку менше 35 Н·см вважається незадовільним і асоціюється з підвищеним ризиком мікрорухомості імплантату в ранні терміни

після встановлення, що може призвести до невдачі інтеграції. Порівняння показників торку під час інсталяції імплантатів проводили між групами у зонах проведеної аугментації та власної кістки пацієнта. Отримані значення дозволили оцінити якість регенованої кістки з точки зору її механічних властивостей. Показники наведені на рисунку 5.6. Додатково було проведено аналіз кореляційної залежності між величиною щільності кісткової тканини, вимірної в одиницях Хаунсфілда (НУ), та значеннями торку (Н·см) у кожній з досліджуваних груп, що дозволило встановити наявність прямої залежності між мінералізацією тканини та механічною стабільністю імплантатів.

Отримані результати мають важливе клінічне значення для прогнозування успіху імплантаційного лікування в зонах проведеної кісткової аугментації.

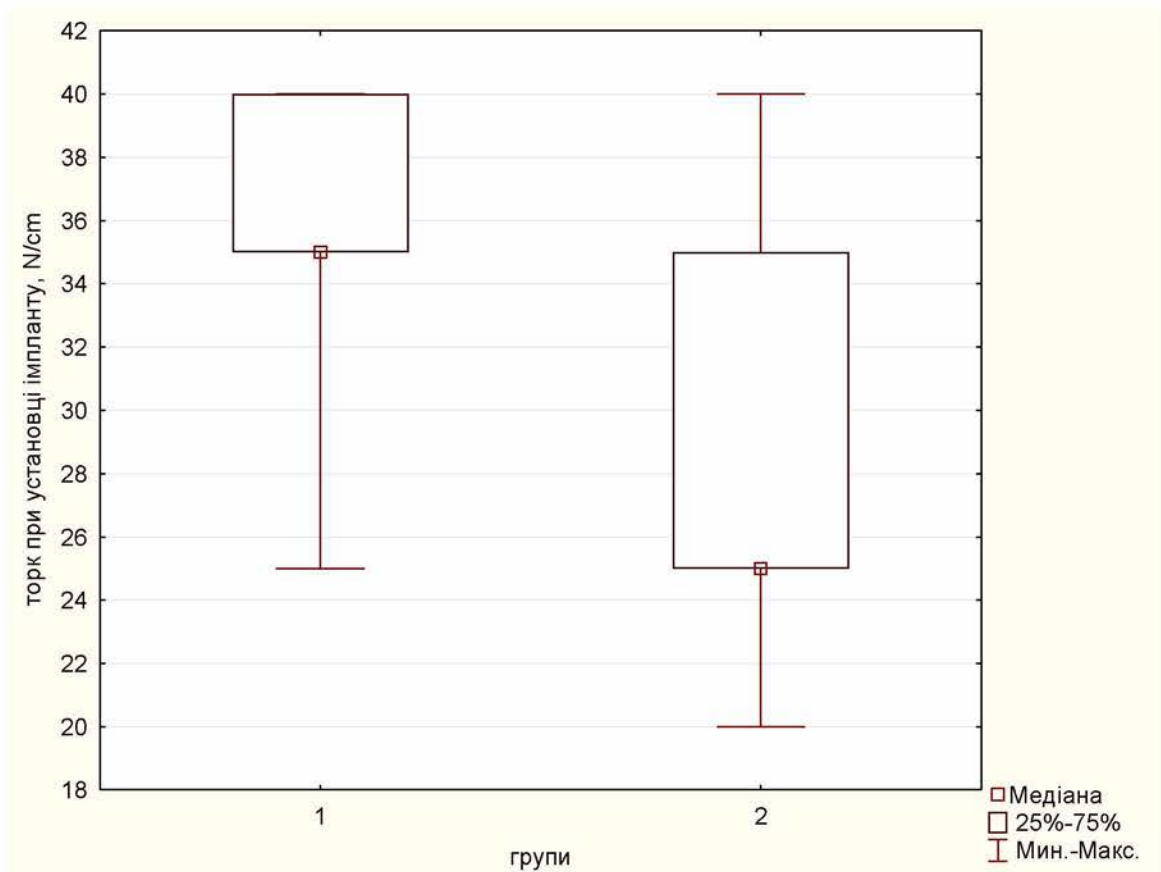


Рисунок 5.6 – Показники торка при інсталяції імплантату (1 – аугментат, 2 – кістка)

При аналізі значень торка в зонах новоствореної кістки медіанне значення торка становило 35 N/cm при 52 спостереженнях. У зонах власної кістки пацієнтів, що безпосередньо межують із зоною аугментації, середнє значення торка при інсталяції імплантату склало 25 N/cm. Значення торка в групі аугментату та в групі власної кістки наведено в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 – Показники торка в групі аугментату та в групі власної кістки

Показник	Група аугментації, n=52	Група кісток, n=67	P-значення при порівнянні груп
Торк при установці імплантату, N/cm (Me (Q25; Q75))	35 (35;40)	25 (25;35)	<0,0001

Різниця медіани торку на 71,4% на користь зони аугментації свідчить про поліпшення якісних характеристик альвеолярного відростка в зоні аугментації кісткового композиту на основі ГАП-ТКФ порівняно із власною кісткою пацієнта.

При інсталяції імплантату нами так само було виявлено кореляційну залежність структурних характеристик кістки Misch і показників торка. Виявлено, що в групі аугментації більшому типу кістки відповідає менше значення торку (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,961$ $p < 0,05$). При типі кістки 2 медіана торку на 33,3% більше, ніж при типі кістки 3 (рисунок 5.7).

В той самий час в групі власної кістки теж спостерігається зворотня кореляція (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,251$ $p > 0,05$), яка не набула статистичної значущості, проте спостерігається тенденція – більшому типу кістки відповідає менше значення торку. При типі кістки 2 медіана торку на 20,0% більше, ніж при типі кістки 3 та 4 (рисунок 5.8).

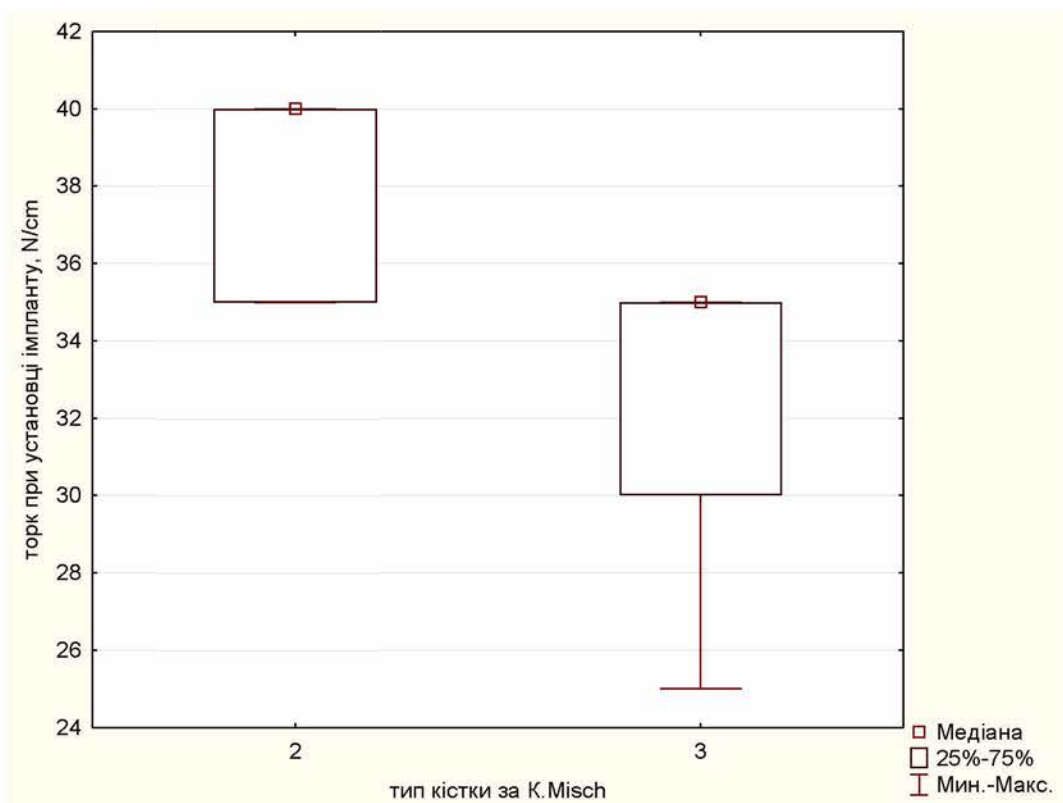


Рисунок 5.7 – Порівняння торку в залежності від типу кістки за Misch в аугментаті

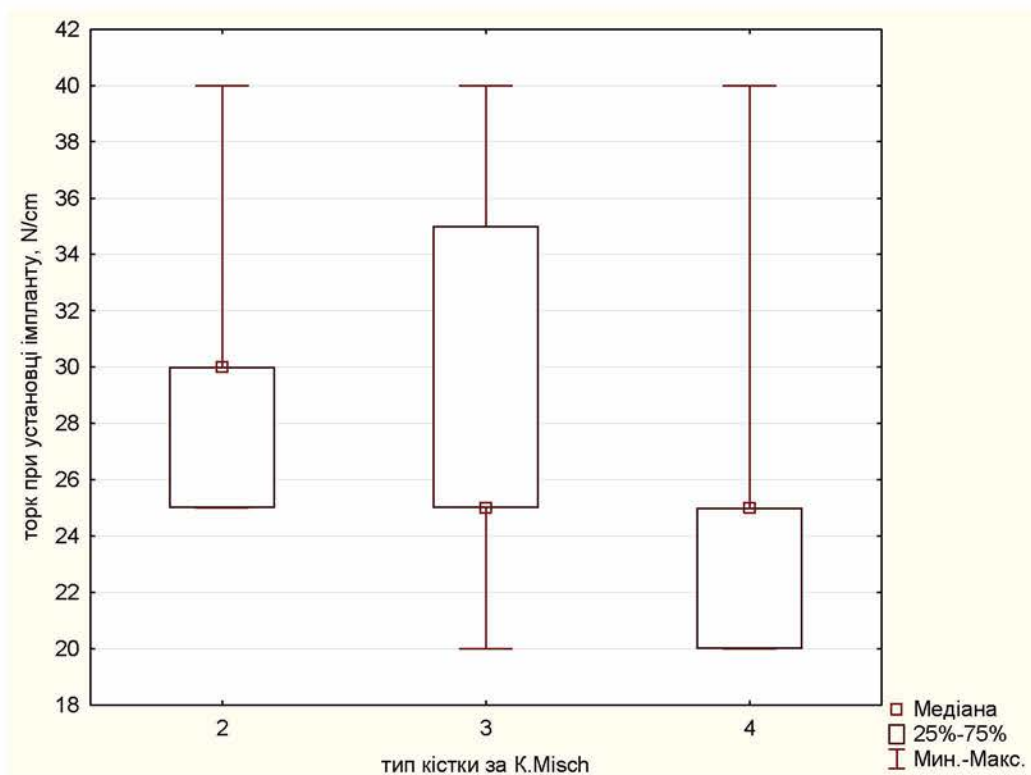


Рисунок 5.8 – Порівняння торку в залежності від типу кістки за Misch у власній кістці

5.5 Оцінка перебігу післяопераційного періоду

Впродовж першої доби післяопераційного періоду на незначну больову реакцію на стороні оперативного втручання скаржилися 17 (77,3 %) пацієнтів; показник вираженості ознаки за ВАШ досяг 1 (1; 1) балів, при максимально можливому значенні в 3 бали; 3 пацієнти (13,6%) мали показник болю 2. За ірадіруючим характером та локацією болю, було встановлено її постінекційне походження. На третій день після аугментації ГА-ТКФ на біль на стороні втручання скаржилися на 7 осіб менше – 9 (40,9 %) замість 17 (77,3%), $p < 0,05$. Терміни після операції сприяли зменшенню інтенсивності болю у досліджених. Динаміка залежності інтенсивності та частоти прояві болю від часу загоєння рани була позитивною; на 7 добу всі досліджуванні заперечували наявність почуття болю (табл. 5.4), $p < 0,05$. До цього терміну 5 (22,7 %) осіб визначили дискомфорт у ділянці загоєння рани.

Таблиця 5.4 – Динаміка зміни вираженості прояви болю

Інтенсивність болю	Доба після оперативного втручання					
	1 доба		3 доба		7 доба	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – біль відсутній	2	9,1	13*	59,1	22**	100,0
1 бал – слабкий біль	17	77,3	9*	40,9	0	0,0
2 бали – помірний біль	3	13,6	0	0,0	0	0,0
3 бали – інтенсивний біль	0	0,0	0	0,0	0	0,0

*позначено різницю частот прояву болю на першу добу та третю добу після операції, що є статистично значущою на рівні $p < 0,05$

**позначено різницю частот прояву болю на першу добу та сьому добу після операції, що є статистично значущою на рівні $p < 0,05$

Незначні порушення носового дихання на стороні оперативного втручання у 3 (13,6 %) пацієнтів у першу добу, супроводжувалося слабо вираженим набряком у щічної ділянці (табл. 5.5, 5.6).

Таблиця 5.5 – Динаміка зміни вираженості проявів порушення носового дихання

Носове дихання на стороні втручання	Доба після оперативного втручання					
	Перша доба після операції		Третя доба після операції		Сьома доба після операції	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – порушення чутливості відсутнє	19	86,4	21	95,5	21	95,5
1 бал – незначне порушення носового дихання	3	13,6	1	4,5	1	4,5
2 бали – значне порушення носового дихання	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3 бали – повна відсутність носового дихання	0	0,0	0	0,0	0	0

Як видно з таблиці 5.5, на третю добу після операції на труднощі проходження повітря через ніздрю на стороні втручання визначив 1 (4,54 %) пацієнт, $p > 0,05$. Зменшення вираженості та частоти випадків порушення дихання на 3 добу супроводжувалося збільшенням середнього значення показника вираженості набряку.

Тенденція до наростання колатерального набряку на 3 добу – процес фізіологічний; кількість пацієнтів з набряком зменшився на одну особу. Післяопераційного набряку м'яких тканин щоки не було тільки у одного пацієнта; можливо через особливості астенічною конституції, можливо через не велику площину втручання – набряк визначили у 21 (95,4 %) пацієнта. У двох набряк був помірно виражений. На третю добу набряку щоки не було тільки у 2 (9,1 %); вираженість набряку тканин щоки у 10 (45,4 %) пацієнтів збільшилася на третю добу: у одного до легкого ступеню, у 7 – до середнього, у 2 – до вираженого; загальна кількість осіб з набряком щоки на третю добу зменшалася на 1 особу, до 90,1 %; на сьому добу тільки у 2 (9,1 %) зберігався незначний набряк м'яких тканин щоки.

Дані щодо проявів набряку м'яких тканин та динаміки його вираженості наведено у табл. 5.6.

Таблиця 5.6 – Динаміка зміни вираженості проявів набряку м'яких тканин

Наявність набряку	Доба після оперативного втручання					
	Перша доба після операції		Третя доба після операції		Сьома доба після операції	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – набряк відсутній	1	4,5	2	9,1	19**	86,4
1 бал – набряк однієї анатомічної ділянки	18	81,8	10*	45,5	3**	13,6
2 бали – набряк двох анатомічних ділянок	3	13,6	8	36,4	0	0,0
3 бали – набряк трьох анатомічних ділянок та більше	0	0	2	9,1	0	0

*позначено різницю частот прояву набряку м'яких тканин на першу добу та третю добу після операції, що є статистично значущою на рівні $p < 0,05$

**позначено різницю частот прояву набряку м'яких тканин на першу добу та сьому добу після операції, що є статистично значущою на рівні $p < 0,05$

На незначні порушення чутливості шкіри у підочної ділянці скаржилися 3 (13,6 %) пацієнтів зі порушенням носового дихання та післяопераційним набряком м'яких тканин підочної ділянки на стороні аугментації. Динаміка зміни вираженості проявів порушення чутливості наведена у табл. 5.7.

Таблиця 5.7 – Динаміка зміни вираженості проявів порушення чутливості

Порушення чутливості (відчуття оніміння) на стороні втручання	Доба після оперативного втручання					
	Перша доба після операції		Третя доба після операції		Сьома доба після операції	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – порушення чутливості відсутнє	19	86,4	14	63,6	21	95,5

1 бал – порушення чутливості в одній анатомічній ділянці	3	13,6	8	36,4	1	4,5
2 бали – порушення чутливості у двох анатомічних ділянках	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3 бали – порушення чутливості у трьох анатомічних ділянках та більше.	0		0			

Ознаки гострого гаймориту не виявили. На третю добу кількість осіб, що позитивно визначили відчуття заніміння збільшилося до 8 (36,4 %); на сьому добу – зменшилася до 1 (4,5 %) особи.

Геморагічна ексудація з рани після операції без ознак активної кровотечи, може бути тимчасовою до 24 годин. Серозне або гнійне виділення з рани – як показник інфікування та бактеріальної контамінацію. Тільки один пацієнт (4,5 %) визначив ексудацію з рани геморагічну у вечорі 1 доби після операції (табл. 5.8).

Таблиця 5.8 – Динаміка зміни вираженості проявів виділення з рани

Виділення з рани	Доба після оперативного втручання					
	Перша доба після операції		Третя доба після операції		Сьома доба після операції	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – виділення відсутні	21	95,5	22	100,0	22	100,0
1 бал – виділення геморагічні	1	4,5	1	4,5	1	4,5
2 бали – виділення серозні	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3 бали – виділення гнійні	0	0	0	0,0	0	0,0

На першу та третю добу після операцій 2 (9,1 %) пацієнта, з точочної перфорацією мембрани Шнайдера під час проведення аугментації ГА, визначили геморагічне виділення з носа на стороні втручання (табл. 5.9).

Таблиця 5.9 – Динаміка зміни вираженості проявів виділення з носа на стороні втручання

Виділення з половини носу	Доба після оперативного втручання					
	Перша доба після операції		Третя доба після операції		Сьома доба після операції	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
0 балів – виділення відсутні	20	90,9	20	90,9	22	100,0
1 бал – виділення геморагічні;	2	9,1	2	9,1	0	0,0
2 бали – виділення серозні;	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3 бали – виділення гнійні	0	0	0	0,0	0	0,0

Дані таблиці 5.9 вказують на відсутність виділень з носа на сьомий день після операції.

Одним з найбільш розповсюджених реактивних проявів оперативного втручання з аугментації ГА-ТКФ була гіперемія слизової оболонки навколо хірургічної рани в першу добу у 21 (95,5 %), у 3 (13,6 %) – на сьому добу, $p < 0,05$.

Уявлення про якість перебігу післяопераційного періоду ми склали за вираженістю реактивних проявів з боку організму як відповідь на аугментацію нового матеріалу ГА-ТКФ у дно верхньощелепного синусу. Одним із способів проявлення реактивності організму клінічно – це виникнення місцевих запальних процесів, глибина яких відображається у ступені вираженості клінічних ознак запалення.

Для розуміння ступеня вираженості клінічних ознак ми порівняли значення суми балів ВАШ всіх ознак запалення, що були включені у дану частину дослідження з максимально можливим значенням ВАШ – 3 бали, який відповідає найгіршому «сценарію» перебігу післяопераційного періоду. Насамперед провели порівняння медіани сумарних показників з половиною максимального сумарного значення (7 признаков по 3 бала = 21) оцінки вираженості симптомів запалення – 10,5 балів. Медіани та значення нижнього і

верхнього квантилів балів пацієнтів на 1, 3, 7 добу після операції наведені в таблиці 5.10

Таблиця 5.10 – Порівняння медіан сумарних значень показників із середнім значенням суми балів ознак.

Вираженість ознак запалення	Доба після оперативного втручання		
	Перша доба після операції	Третя доба після операції	Сьома доба після операції
M±m	3 (3; 4)	3 (3; 4)	0 (0; 1)**
Me/10,5	0,286	0,286	Не порівнюється

** позначена різниця балів на першу добу та сьому добу після операції, як статистично значуща на рівні $p < 0,0001$

Як видно з таблиці 5.10 статистичний аналіз за критерієм Вілкоксона показав, що для кожного періоду лікування кількість балів була статистично значуще нижче середнього значення, що свідчить про стабільне динамічне полегшення локального стану пацієнта у ділянці операційного втручання. Що у свою чергу показник відсутності реактивної відповіді організму на присутність графту у синусі. На рис. 5.9 наведено порівняння сумарного показника на 1, 3 та 7 добу після операції.

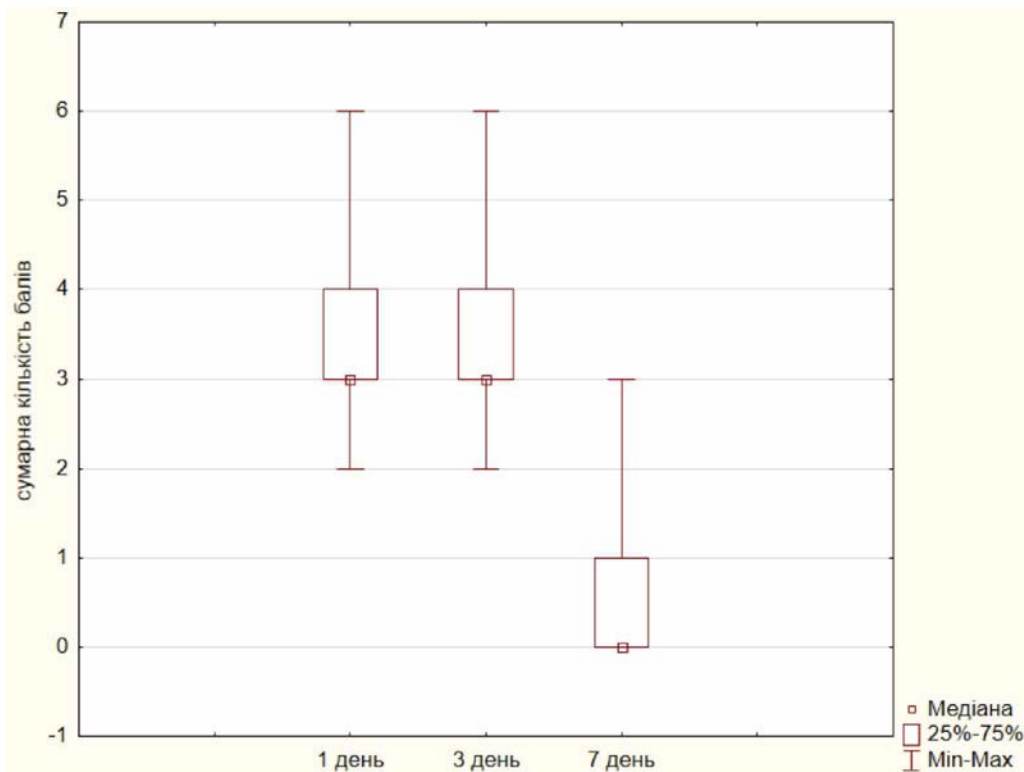


Рисунок 5.9 – порівняння сумарного показника на 1, 3 та 7 день після операції

Резюме до розділу 5

Терміни проведення імплантації варіювали від 6,5 до 34 місяців та були зумовлені особистими обставинами пацієнтів. Медіана часового проміжку після проведення аугментації склала 9,50 місяців (8,00; 11,75). Встановлено, що такі рамки часового проміжку експозиції не мали впливу на основні критерії якісної оцінки новоствореної кісткової тканини. При визначенні типу кісткової тканини за класифікацією Misch (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,072$; $p > 0,05$), оцінці однорідності (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,174$; $p > 0,05$), кровоточивості (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,036$; $p > 0,05$) та щільності тканини (коефіцієнт кореляції Спірмена $R = 0,084$; $p > 0,05$), а також при аналізі торків при установці дентальних імплантатів (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = 0,154$; $p > 0,05$) не було виявлено суттєвих статистично значущих відмінностей у показниках пацієнтів в залежності від термінів експозиції аугментату. Було встановлено стабільне збереження обсягу аугментату, що характерно для синтетичних кісткових композитів, і відсутність вираженої реакції з боку мембрани Шнейдера як у ранні, так і у віддалені терміни імплантації.

Відмічалось превалювання другого і третього типу кісткової тканини Misch в групі аугментату в порівнянні із власною кістковою тканиною пацієнтів. Варто зауважити, що кількісний розподіл типів 2 і 3 у групі аугментації був майже рівномірним (48%:52%), що може говорити про стабільність процесів ремоделювання кісткової тканини в новоствореній кістці.

При аналізі густинних характеристик аугментату, середня його щільність склала $1132,596 \pm 334,887$ HU, що в 2,35 разів перевищує показник власної кістки пацієнта на аналогічній ділянці, де середня щільність становила $482,612 \pm 236,916$ HU. Тенденція до збільшення щільності новоствореної кістки по відношенню до власної кістки може бути обумовлена перенасиченням зони аугментації гідроксилапатітом, що призводить до утворення більш щільних структур при хаотичній побудові кісткових трабекул при ремоделюванні.

Виражена кровоточивість у зоні аугментату визначалася у 67,3% спостережень. Слабка кровотеча в зоні аугментату визначалася у 32,7% спостережень. У той час як ті ж показники власної кістки пацієнтів склали відповідно: інтенсивна кровотеча – 47,8%, слабка кровотеча – 52,2% обстежених. Варто зазначити, що інтенсивна кровотеча із зони аугментату була на 19,5% вищою, ніж у групі власної кістки пацієнтів..

При розгляді ситуації з точки зору покращення якісних характеристик кістки з метою отримання позитивного прогнозу імплантації, можна сказати, що проведення субантральної аугментації синтетичним кістковим композитом на основі ГАП-ТКФ покращує якість кістки на 19,5% у порівнянні з власною кісткою пацієнта, завдяки підвищенню ступеня васкуляризації імплантаційного ложа.

При аналізі показників рівномірності будови кістки в області аугментату в 69,2% було виявлено рівномірну структуру, тоді як у зоні власної кістки пацієнта цей показник становив 3,0%. Нерівномірність структури власної кістки (97,0%) цілком корелює із загальновідомими даними анатомії верхньої щелепи.

У той самий час, оцінюючи ситуацію з рівномірністю будови кісткової тканини, як показником успішності імплантації, можна зробити висновок, що у зоні аугментації синтетичного кісткового композиту з урахуванням ГАП-ТКФ поліпшився стан кістки на 66,2% за показником рівномірність.

При аналізі значень торка в зонах новоствореної кістки медіанне значення торка становило 35 N/cm при 52 спостереженнях. У зонах власної кістки пацієнтів, що безпосередньо межують із зоною аугментації, медіанне значення торка при інсталяції імплантату склало 25 N/cm.

Різниця показників торку на 71,4% на користь зони аугментації свідчить про поліпшення якісних характеристик альвеолярного відростка в зоні аугментації кісткового композиту на основі ГАП-ТКФ порівняно із власною кісткою пацієнта.

При інсталяції імплантату нами так само було виявлено кореляційну залежність структурних характеристик кістки Misch і показників торка. Виявлено, що в групі аугментації більшому типу кістки відповідає менше значення торку (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,961$ $p < 0,05$). При типі кістки 2 медіана торку на 33,3% більше, ніж при типі кістки 3 (рисунок 5.7).

В той самий час в групі власної кістки теж спостерігається зворотня кореляція (коефіцієнт кореляції гамма $\gamma = -0,251$ $p > 0,05$), яка не набула статистичної значущості, проте спостерігається тенденція – більшому типу кістки відповідає менше значення торку. При типі кістки 2 медіана торку на 20,0% більше, ніж при типі кістки 3 та 4.

Статистична значущість ($p < 0,0001$) різниць значень вираженості ознак запалення за ВАШ у сьому та першу і третю добу вказує на позитивну динаміку перебігу післяопераційного періоду.

Основні положення цього розділу опубліковані в 1 статті та 3 тезах:

1. Kosinov O, Manukhina O, Volchykhina K, Mishchenko O, Liutyi A, Ramanaviciute A, Ratautaite V, Ramanavicius A. Cross-Sectional Clinical Evaluation of Subantral Augmentation Using Nano Graft Composite: Implications for Implant Success. *Dentistry Journal*. 2026; 14(1):57. <https://doi.org/10.3390/dj14010057> (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Volchykhina K. – технічне оформлення статті; Manukhina O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних)
2. Клінічний аналіз якісного складу аугментату після відкритого синусліфтингу / О.С. Косінов // “Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice”: Матер. наук.-практ. конф. (Ізмаїл, 22.12.2023). – С. 100.
3. Аналіз торку при установці імплантату в ділянку субантральної аугментації та власну кістку/ О.С. Косінов //“Current issues of science, education and technology in Ukraine and the world”: Матер. наук.-практ. конф. (Тампере, Фінляндія, 29.12.2023). – С. 51-52.
4. Оцінка ступеню васкуляризації кістки після субантральної аугментації, / О.С. Косінов //“Current state and priorities of modernization of science, education and technology”: Матер. наук.-практ. конф. (Біла Церква, 10.01.2024). – С. 71-72.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані у роботі дані свідчать про ефективну взаємодію матеріалу Нанографт з клітинами та тканинами альвеолярних відростків. В більшості випадків залишки біоматеріалу визначалися всередині кісткових трабекул, і лише незначна частка виявлялася позатрабекулярно, демонструючи високу інтеграцію наноматеріалу з новоутворенням кістки в зоні синусліфтингу. При цьому варто підкреслити, що використаний для аугментації синусів біоматеріал був імунологічно не активним.

За даними гістоморфометричного аналізу, більша площа залишків трансплантату у зонах аугментації контактувала саме з новоутвореною кістковою тканиною, що відбиває механізми остеокондуктивного ефекту Нанографту. Як показали результати попередніх досліджень кількість новоутвореної кістки, залишків трансплантата і компонентів сполучної тканини широко варіюють при використанні різних матеріалів для синус-ліфтингу [7; 97]. Наприклад, використання аутогенної кістки більшою мірою стимулювало остеогенез порівняно з біфазним фосфатом кальцію (БФК) [7; 22]. За даними цього дослідження, за 6-8 місяців після синусліфтингу відсоток новоутвореної кістки в зоні аугментації становив 28,2% і 36,8% для БФК та аутогенної кістки відповідно. Більша частка зон інтересу була зайнята сполучною тканиною, що формувала відповідно 38,9% і 58,4%. При цьому фрагменти залишків БФК становили до 32,9% відбиваючи обмежену біодеградацію матеріалу. Натомість при використанні аутогенної кістки, фрагменти її залишків формували в середньому 4,8% від загального об'єму біоптатів з зон аугментації, що власне є основою для позиціонування даного матеріалу у якості золотого стандарту [22; 97; 141]. Отримані у роботі результати значно перевищують показники для БФК, і наближаються до параметрів при використанні аутологічної кісткової тканини, що по факту відбиває високу біосумісність і в той же час відповідну біодеградацію Нанографту, який виконував роль провідника для утворення власної кісткової тканини. Отримані результати демонструють переваги

використання Нанографту також порівняно з алогенною кісткою, при застосуванні якої тільки $18,65 \pm 12,20\%$ було сформовано новоутвореною кісткою, $25,93 \pm 12,36\%$ - залишками алогенного матеріалу та $53,45 \pm 10,34\%$ - сполучною тканиною [142]. В той же час, треба відзначити, що за даними нещодавніх клінічних досліджень щодо використання комбінованих скафолдів на основі гідроксиапатиту та полімолочної кислоти або поліетиленаміну, що поєднують в собі характеристики біодеградуєчих полімерів та біокераміки були отримані результати порівняні з тими, що наведені у даній роботі [143].

Гістоморфометричний аналіз надав можливість оцінити не тільки пропорцію та взаємодію між новоутвореною кісткою та залишками Нанографту, але й визначити ступінь дозрівання новоутвореної кісткової тканини в зоні використання трансплантата. За даними проведеного у роботі дослідження, більшість кісткових трабекул у складі біоптатів зон аугментації відповідали третій стадії остеогенезу – ремоделювання кістки з заміщенням грубоволокнистої кісткової тканини на пластинчасту. При цьому більш ніж в чверті трабекул виявлені ознаки високої зрілості з наявністю остеонів. Отримані дані порівняні з такими в дослідженні інших 5 кісткових матеріалів [9]. Утворення кістки та ефективний прямий остеогенез по факту є результатом активності клітин кісткової тканини – в першу чергу остеобластів та остеокластів, залучених в процесі остеогенезу та ремоделювання кістки.

Варто зауважити, що кісткова тканина є високо динамічною та піддається постійній перебудові. Ремоделювання кістки також є невід'ємним компонентом остеогенезу, оскільки на ранніх його стадіях відбувається утворення первинної (ретикулофіброзної кістки), яка згодом зміщується на пластинчасту [62; 145]. Основними клітинами, що відповідають за утворення кістки є остеобласти, що мають високу синтетичну активність, продукують органічну матрицю кісткового матриксу (колаген I типу, протеоглікани та глікопротеїни), а також забезпечує процес мінералізації кісткового матриксу. Вони також експресують білки, залучені у ремоделювання кісткового матриксу. Субпопуляція остеобластів диференціюються з мезенхімальних стовбурових клітин через

активацію транскрипційного фактору RUNX2. На першому етапі сформовані остеобласти продукують органічну матрицю (остеоїд), утворений переважно колагеном I типу. По мірі дозрівання остеобласти забезпечують мінералізацію матриксу та замуруються в лакуни, перетворюючись на остецити, що відіграють важливу сигнальну роль у відповідь на механічні стимули.

Окрім рецепторів до паратиреоїдного гормону, остеогенні клітини також мають рецептори до факторів росту, що регулюють процеси проліферації та диференціювання різних клітин кісткової тканини. Серед факторів росту, доведена важлива роль BMPs, FGF, IGF, VEGF та TGF- β . При цьому BMP-2, BMP-4 і BMP-7 відіграють ключову роль у остеогенному диференціюванні МСК, що супроводжується експресією остеогенних маркерів, включаючи SATB2 [89;18]. Крім того, інші фактори росту також мають внесок до остеогенезу. Так bFGF стимулює процес мінералізації кістки, IGF-1 посилює скелетогенне диференціювання та анаболічну активність остеобластів, VEGF сприяє ангиогенезу, що забезпечує оптимальне кровопостачання та високий pO_2 , TGF- β стимулює синтез колагену I типу, а PDGF – остеогенне диференціювання МСК та процеси регенерації [7; 23; 62].

У даному дослідженні в зоні аугментації було визначено значну кількість остеогенних клітин, що експресували SATB2. Окрім SATB2+ клітин на поверхні кісткових трабекул, значна кількість комітованих остеогенних клітин виявлялася вільно в сполучній тканині між трабекулами Ці SATB2-позитивні клітини по факту можуть відповідати індукованим клітинам попередницям, що включилися в процес остеогенного диференціювання. Така картина може відбиває остеоіндуктивний потенціал Нанографту, який стимулював диференціювання та міграцію остеогенних клітин до ділянок остеогенезу.

За даними проведеного гістологічного та імуногістохімічного дослідження використання Нанографту супроводжувалося ознаками незначної запальної реакції. В межах біоптатів визначалися лише невеличкі дифузійні лімфогістіоцитарні інфільтрати, що на думку різних авторів можуть бути наслідком транзиторної слабкої імунної реакції як відповідь на ушкодження в

зоні аугментаціх та нормального процесу ремоделювання кістки [12; 62]. При цьому було визначено лише незначну кількість CD8+ Т-клітин, для яких також доведено роль у остеогенезі та ремоделюванні кісток [146].

Важливо також підкреслити, що під час дослідження біоптатів тканин з зон аугментації не було виявлено Т-регуляторних клітин, які відповідні за механізми імунної толерантності. Отримані результати можуть свідчити про первинну низьку імуногенність використаного кісткового матеріалу Нанографт. Також не можна виключити роль інших механізмів протизапальної дії, які пов'язані з активністю різних підтипів макрофагів.

Як показали результати даного дослідження, в біоптатах з зони аугментації було визначено численні макрофаги як CD68+ так і CD163+. Особливу увагу привертала щільна мережа CD163-позитивних M2-макрофагів. Раніше Xia Z показав, що макрофаги є домінуючим типом клітин у складі інфільтрації, що формується у відповідь на імплантацію біоматеріалу як у м'які, так і у в тверді тканини. Ці клітини та їх варіанти, в тому числі багатоядерні гігантські клітини чужорідних тіл. Активація макрофагів, що є невід'ємною частиною імунної системи, відбувається при будь яких інтервенціях з використанням біологічних матеріалів, як складова запальної відповіді і реакції на чужорідний матеріал. Крім того, макрофаги відіграють важливу роль в біодеградації біоматеріалів, які використовуються для імплантації, через ініціацію механізмів фагоцитозу та позаклітинної деградації.

Класично активовані макрофаги (макрофаги M1) є прозапальним підтипом. Ці клітини мають виразну міграційну та фагоцитарну активність, численні лізосоми, високу активність iNOS та секретують прозапальні цитокіни (IL-1b, TNFa, IL-8) [27; 147]. Крім того M1-макрофаги пов'язані з іншими клітинами. Наприклад продукція інтерферону γ (IFN γ) Т-лімфоцитами, супроводжується активацією макрофагів в прозапальний тип [14; 148]. Альтернативно активовані макрофаги (M2-тип) мають протизапальну функцію та регулюють процеси репарації та ремоделювання тканин. Поляризація диференціювання макрофагів у бік M2-типу як правило спричинена дією

цитокінів ІЛ-13 та ІЛ-4. При цьому активовані М2-макрофаги продукують широкий спектр протизапальних цитокінів та факторів росту [27; 149].

Після пошкодження тканин альвеолярних відростків, яке неминуче відбувається під час процедури синусліфтингу, макрофаги одні з перших відповідають на інтервенцію. Їх активація при цьому супроводжується трансформацією в запальний фенотип та секрецію прозапальних медіаторів, як то фактор некрозу пухлин (TNF), оксид азоту (NO) та ІЛ-1, які беруть участь не тільки в активації різних антимікробних механізмів, а й в стимуляції окисних процесів, що можуть стимулювати вторинну альтернацію [12; 27]. Інші медіатори, що виробляють активовані макрофаги, включають ІЛ-12 та ІЛ-23, які впливають на поляризацію клітин ТН1 та ТН17, може призводити до розвитку хронічного запалення та аутоімунних процесів. При цьому наявність в зоні інтервенції чужорідного матеріалу кісткового трансплантату може підтримувати тривалу активацію М1-макрофагів. Враховуючи продукцію широкого спектру ферментів та активних радикалів кисню, виразна та/або активація М1- типу макрофагів може призводити до ушкодження кістки, розвитку хронічного запалення та остеолітичних процесів [25; 150].

На відміну від прозапальних М1-макрофагів, М2-тип макрофагів демонструє потужну протизапальну активність і відіграє важливу роль у репаративних процесах. Вони також є антагоністами М1-макрофагів та перемикачами з фази запалення до репарації та відновлення гомеостазу тканин. Нещодавні дослідження також показали, що макрофаги М1 можуть самі «перетворюватися» на протизапальні макрофаги та стимулювати регенеративні процеси [151]. Макрофаги М2 виробляють фактори росту, які стимулюють проліферацію та диференціювання клітин різних ліній, включаючи фібробласти, кератиноцити, ендотеліоцити, і навіть остеогенні клітини. Трансформуючий фактор росту- β 1 (TGF β 1) і фактор росту тромбоцитарного походження (PDGF) сприяють диференціації фібробластів у міофібробласти, посилюючи експресію тканинних інгібіторів металопротеїназ (TIMP), які блокують деградацію позаклітинного матриксу (ECM), і безпосередньо

стимулюючи синтез інтерстиціальних фібрилярних колагенів. VEGF, що продукують M2- макрофаги є стимулятором проліферації ангиогенних клітин та ангиогенезу [13; 152].

Макрофаги відіграють вирішальну роль у формуванні та мінералізації кісток. Зменшення кількості макрофагів у первинних культурах кісткових остеобластів *in vitro* затримує остеогенну диференціацію та мінералізацію [25]. Аналогічні дані були отримані й в роботі Solakoglu Ö et al., які продемонстрували наявність незначної кількості інфільтратів та присутність CD3, CD4+ та CD8+ лімфоцитів у їх складі за умов використання різних варіантів кісткових алографтів. У трансгенній мишачій моделі MaFIA (індукованого fas апоптозу), короткочасне виснаження макрофагів при обробці синтетичним лігандом *in vivo* призводило до кількісного зменшення ділянок остеогенезу [154]. В той же час тривале виснаження макрофагів *in vivo* у молодих (3–21 день) і дорослих (16–22 місяців) мишей призводило до формування остеопенічного фенотипу з низькими рівнями сироваткових маркерів обміну кісткової тканини [155]. При цьому у кістках була помітно знижена анаболічна дія ПТГ. Це дослідження підтвердило гіпотезу про те, що кісткові макрофаги відіграють ключову роль в анаболізмі кісток. Інше незалежне дослідження з мишами з дефіцитом лізоциму M також показало, що внутрішньоутробне виснаження макрофагів призвело до ранньої затримки росту скелета та прогресуючого остеопорозу [156].

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування використання нового композитного матеріалу при субантральній аугментації та запропоновано нове вирішення науково-прикладного завдання, що полягає у підвищенні ефективності субантральної аугментації.

1. Узагальнення результатів скануючої електронної мікроскопії, інфрачервоної спектроскопії, рентгенівської дифракції, дозволило стверджувати, що новий синтетичний кістковий композит на основі гідроксилапатиту та трикальційфосфату зі спущеною формулою має структурні переваги за рахунок сферичної форми, утворені аморфним фосфатом кальцію та значної кількості пор (65 %). Така мезопориста структура матеріалу може забезпечити як міграцію клітин усередину гранул, так і дифузію рідин.

2. Моделюванням відновлення резазурину *in vitro* на 1, 3, 5 і 7 день встановлено відсутність імуногенності нового кісткового композиту. Дослідження показало, що неорганічний кальцій-фосфат у складі кісткового композиту виступав специфічним стимулятором проліферації та диференціації клітин остеобластичного диферону та сприяв покращеній адгезії остеобластів на поверхні зразків; також клітини, що культивувалися на його поверхні, продукували майже удвічі більше колагену, що призводило до активної побудови міжклітинного матриксу після імплантації. При взаємодії з кров'ю матеріал забезпечував її швидке згортання, що може забезпечити формування «фібрінового каркасу» в процесі остеогенезу.

3. Оцінка інтенсивності запальної реакції у біоптатах з ділянки аугментації показала відсутність імуногенності нового композитного матеріалу: аналіз структури та клітинного складу сполучної тканини у зоні імплантації дозволило виявити слабку імунну інфільтрацію – слабку реакцією CD8+лімфоцитів та M2-поляризацію макрофагів.

4. На основі даних, отриманих при об'єктивізації процесу ремоделювання кістки та остеогенезу доведено високу біостимулюючу та остеоіндукуючу здатність нового матеріалу. Аугментація синусів призводила до стимуляції остеогенного диференціювання клітин та активного остеогенезу з ознаками ремоделювання та заміщенням грубоволокнистої фіброзної кістки пластинчастою кістковою тканиною з утворенням остеонів.

5. Результати визначення щільності кістки і первинної стабільності дентальних імплантатів у ділянці аугментації використовували класифікацію за рівнем її щільності легли в основу огрунтування клінічної ефективності використання нового композитного матеріалу при субантральної аугментації. Встановлено превалювання другого і третього типу кісткової тканини Misch в групі аугментату в порівнянні із власною кістковою тканиною пацієнтів (середня щільність аугментату склала $1132,596 \pm 334,887$ НУ, що на 45,9% вище, ніж у власної кістки пацієнта на тій же ділянці ($519,269 \pm 395,041$ НУ); різниця показників торку склала 71,4% на користь зони аугментації.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Використання ГА-ТКФ для субантральної аугментації та реституції кісткових дефектів щелепно-лицевої ділянки за рахунок гарних остеокондуктивних властивостей дозволяє створювати точний об'єм аугментату без огляду на можливе розсмоктування та деформацію. Це є рекомендацією до його використання при значних за розміром дефектах та дефіциті об'єму кісткової тканини.

2. При плануванні імплантації в умовах передбачуваного 3- 4 типу кістки за 209, рекомендовано попередньо провести аугментацію ГА-ТКФ в ділянку будучого імплантаційного ложа. Оскільки це дозволяє в майбутньому змінити тип кістки на більш щільний зі зберіганням адекватної васкуляризації. Що в подальшому сприяє забезпеченню задовільних показників торку при встановленні імплантату, та робить прогноз більш сприятливим.

3. При виборі терміну проведення імплантації враховувати особливості васкуляризації реципієнтної зони та об'єм аугментату, оскільки значний часовий проміжок (від 6,5 до 34 місяців) є однаково сприятливим для утворення якісної кісткової тканини.

4. При проведенні імплантації в зоні аугментації ГА-ТКФ, при умові витримання строків, необхідних для ремоделювання матеріалу, рекомендований торк інсталяції імплантату складає 35-40 Ncm, та допускається можливість проведення конденсації новоутвореної кісткової тканини без ризику порушення васкуляризації області імплантаційного ложа.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ma H, Van Dessel J, Shujaat S, Bila M, Sun Y, Politis C, Jacobs R. Long-term survival of implant-based oral rehabilitation following maxillofacial reconstruction with vascularized bone flap. *Int J Implant Dent*. 2022 Apr 5;8(1):15. doi: 10.1186/s40729-022-00413-7.
2. Senra MR, Marques MdFV. Synthetic Polymeric Materials for Bone Replacement. *Journal of Composites Science*. 2020; 4(4):191. <https://doi.org/10.3390/jcs4040191>.
3. Sharma A, Kokil GR, He Y, Lowe B, Salam A, Altalhi TA, Ye Q, Kumeria T. Inorganic/organic combination: Inorganic particles/polymer composites for tissue engineering applications. *Bioact Mater*. 2023 Jan 11;24:535-550. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.01.003.
4. Tran SD, Preshaw PM, Luan X, Jin L. Regenerative dentistry in periodontics. *Saudi Dent J*. 2019;31(3):301-312. doi:10.1016/j.sdentj.2019.03.003.
5. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem*. 2010;285(33):25103-25108. doi:10.1074/jbc.R109.041087.
6. Raja S, Byakod G, Pudakalkatti P. Growth factors in periodontal regeneration. *Int J Dent Hyg*. 2009;7(2):82-89. doi:10.1111/j.1601-5037.2009.00365.x.
7. Ferraz MP. Bone Grafts in Dental Medicine: An Overview of Autografts, Allografts and Synthetic Materials. *Materials (Basel)*. 2023 May 31;16(11):4117. doi: 10.3390/ma16114117.
8. Baldwin P, et al. Autograft, allograft, and bone graft substitutes: clinical evidence and indications for use in the setting of orthopaedic trauma surgery. *J Orthop Trauma*. 2019;33(4):203-13.

9. De Pace R, Molinari S, Mazzoni E, Perale G. Bone Regeneration: A Review of Current Treatment Strategies. *Journal of Clinical Medicine*. 2025; 14(6):1838. <https://doi.org/10.3390/jcm14061838>.
10. Mahesh L, Kurtzman GM, Gulati N. Autogenous Tooth-Derived Graft Material in Alveolar Bone Regeneration: A Clinical and Histological Assessment. *Med Res Arch*. 2025;13(8):[page numbers if available]. doi:10.18103/mra.v13i8.6785.
11. Rezaie ES, Visser NJ, van den Berg C, Shin AY, Bishop AT. Vasculogenic gene therapy: No role for revitalization of structural bone allografts. *J Orthop Res*. 2023 May;41(5):1014–1021.
12. Almadani YH, et al. Wound healing: A comprehensive review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2021;67:102493. doi:10.1016/j.amsu.2021.102493.
13. Moreira HR, et al. Vascularization in skin wound healing: where do we stand and where do we go? *Curr Opin Biotechnol*. 2022 Feb;73:253-262. doi:10.1016/j.copbio.2021.08.019.
14. Wang H, et al. T cell-related osteoimmunology in fracture healing. *J Orthop Transl*. 2025. doi:10.1016/j.jot.2024.12.004.
15. Kozik VV, et al. Preparation of CaO@TiO₂-SiO₂ biomaterial with a sol-gel method for bone implantation. *ACS Omega*. 2020;5(42):27221–27226.
16. Zhu L, Luo D, Liu Y. Effect of the nano/microscale structure of biomaterial scaffolds on bone regeneration. *Int J Oral Sci*. 2020;12(1):6.
17. Gouveia PF, Mesquita-Guimarães J, Galárraga-Vinueza ME, Souza JCM, Silva FS, Fredel MC, Boccaccini AR, Detsch R, Henriques B. In-vitro mechanical and biological evaluation of novel zirconia reinforced bioglass scaffolds for bone repair. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;114:104164. doi:10.1016/j.jmbbm.2020.104164.
18. Yedekçi B, Tezcaner A, Alshemary AZ, Yılmaz B, Demir T, Evis Z. Synthesis and sintering of B, Sr, Mg multi-doped hydroxyapatites: Structural, mechanical and biological characterization. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;115:104230. doi:10.1016/j.jmbbm.2020.104230.

19. McNamara SL, McCarthy EM, Schmidt DF, Johnston SP, Kaplan DL. Rheological characterization, compression, and injection molding of hydroxyapatite-silk fibroin composites. *Biomaterials*. 2021;269:120643. doi:10.1016/j.biomaterials.2020.120643.
20. Dewey MJ, Nosatov AV, Subedi K, Shah R, Jakus A, Harley BAC. Inclusion of a 3D-printed Hyperelastic Bone mesh improves mechanical and osteogenic performance of a mineralized collagen scaffold. *Acta Biomater*. 2021;121:224–236. doi:10.1016/j.actbio.2020.11.028.
21. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res*. 2019;14:18. doi:10.1186/s13018-018-1041-0.
22. Safari B, Shahraki J, Movassaghian S, Shokrgozar MA, Tayebi L. Osteogenic effects of the bioactive small molecules and minerals in the scaffold-based bone tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;198:111462. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111462.
23. Jodati H, Yilmaz B, Evis Z. A review of bioceramic porous scaffolds for hard tissue applications: Effects of structural features. *Ceram Int*. 2020;46(10):15725–15739. doi:10.1016/j.ceramint.2020.03.192.
24. Wang Y. et al. (2025) Osteoimmunology uncovered: How macrophages and biomaterials revolutionize bone healing. *Materials Today Bio*. DOI: 10.1016/j.mtbio.2025.102647.
25. Todros S, Todesco M, Bagno A. Biomaterials and their biomedical applications: from replacement to regeneration. *Processes*. 2021;9(11):1949. doi:10.3390/pr9111949.
26. Gou M. et al. (2024) Macrophages in guided bone regeneration: potential roles. *Frontiers in Immunology*. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1396759.
27. He J, et al. Scaffold strategies for modulating immune microenvironment during bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;108:110411. doi:10.1016/j.msec.2019.110411.

28. Wang Q, et al. Magnetic lanthanum-doped hydroxyapatite/chitosan scaffolds with endogenous stem cell-recruiting and immunomodulatory properties for bone regeneration. *J Mater Chem B*. 2020;8(24):5280-5292. doi:10.1039/D0TB00552H.
29. Munaò S. et al. (2025) Immune-Guided Bone Healing: The Role of Osteoimmunity. *International Journal of Molecular Sciences*. DOI: 10.3390/ijms262311642.
30. Liu X, et al. The role of toll-like receptors in orchestrating osteogenic differentiation and bone regeneration. *Front Cell Dev Biol*. 2023. doi:10.3389/fcell.2023.1277686.
31. Chen Y, et al. Targeting dendritic cells in osteoimmunology and bone regeneration. *Bone Res*. 2025. doi:10.1038/s41413-025-00456-7.
32. Wang H, Kang J. Bone grafts and synthetic substitutes in dental applications: a comprehensive review of molecular mechanisms, materials evolution, and clinical perspective. *Front Bioeng Biotechnol*. 2026;13:1759864. doi:10.3389/fbioe.2025.1759864.
33. Cho JH, Song HK. Current concepts and applications of bone graft substitutes in orthopedic surgery. *J Musculoskelet Trauma*. 2025;38(4):169-177.
34. Wang Z, Wang Y, Yan J, Zhang K, Lin F, Xiang L, Deng L, Guan Z, Cui W, Zhang H. Pharmaceutical electrospinning and 3D printing scaffold design for bone regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021;174:504–534. doi:10.1016/j.addr.2021.05.007.
35. Emon NU, Zhang L, Osborne SD, Lanoue MA, Huang Y, Tian ZR. Novel Nanomaterials for Developing Bone Scaffolds and Tissue Regeneration. *Nanomaterials*. 2025; 15(15):1198. <https://doi.org/10.3390/nano15151198>.
36. Zhang K, Ma B, Hu K, Yuan B, Sun X, Song X, Tang Z, Lin H, Zhu X, Zheng Y, J García A, G Mikos A, M Anderson J, Zhang X. Evidence-based biomaterials research. *Bioact Mater*. 2022 Apr 25;15:495-503. doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.04.014.

37. Xiong S, Zhang Y, Zeng J, Zhou J, Liu S, Wei P, Liu H, Yi F, Wan Z, Xiong L, Zhang B, Li J. DLP fabrication of HA scaffold with customized porous structures to regulate immune microenvironment and macrophage polarization for enhancing bone regeneration. *Mater Today Bio.* 2024;24:100929. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100929.
38. Todros S, Todesco M, Bagno A. Biomaterials and their biomedical applications: from replacement to regeneration. *Processes.* 2021;9(11):1949. doi:10.3390/pr9111949.
39. Randers M. Ceramics and composites made of calcium phosphate that are biocompatible. *J Bioceram Dev Appl.* 2022;12(5):223. doi:10.37421/2090-5025.2022.12.223.
40. Abdulsalam L, Abubakar S, Permatasari I, Lawal AA, Uddin S, Ullah S, Ahmad I. Advanced Biocompatible and Biodegradable Polymers: A Review of Functionalization, Smart Systems, and Sustainable Applications. *Polymers.* 2025; 17(21):2901. <https://doi.org/10.3390/polym17212901>.
41. Vaiani L, Boccaccio A, Uva AE, Palumbo G, Piccininni A, Guglielmi P, Cantore S, Santacroce L, Charitos IA, Ballini A. Ceramic Materials for Biomedical Applications: An Overview on Properties and Fabrication Processes. *J Funct Biomater.* 2023 Mar 4;14(3):146. doi: 10.3390/jfb14030146.
42. Bozza B, Pesce P, Baldi D, Bagnasco F, Migliorati M, De Angelis N. Synthetic Biomaterials for Alveolar Bone Regeneration: A Systematic Review of Clinical Evidence. *Materials.* 2025; 18(23):5328. <https://doi.org/10.3390/ma18235328>.
43. Li W, Dai F, Zhang S, Xu F, Xu Z, Liao S, Zeng L, Song L, Ai F. Pore size of 3D-printed polycaprolactone/polyethylene glycol/hydroxyapatite scaffolds affects bone regeneration by modulating macrophage polarization and the foreign body response. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(18):20693–20707. doi:10.1021/acsami.2c02001.

44. Hou X, Zhang L, Zhou Z, Luo X, Wang T, Zhao X, Lu B, Chen F, Zheng L. Calcium Phosphate-Based Biomaterials for Bone Repair. *J Funct Biomater*. 2022 Oct 14;13(4):187. doi: 10.3390/jfb13040187.
45. Demir-Oğuz Ö, Boccaccini AR, Loca D. Injectable bone cements: What benefits the combination of calcium phosphates and bioactive glasses could bring? *Bioact Mater*. 2022;19:217–236. doi:10.1016/j.bioactmat.2022.04.007.
46. Fernandes HR, Kannan S, Alam M, Stan GE, Popa AC, Buczyński R, Gołębiewski P, Ferreira JMF. Two decades of continuous progresses and breakthroughs in the field of bioactive ceramics and glasses driven by CICECO-hub scientists. *Bioact Mater*. 2024 Jun 8;40:104-147. doi: 10.1016/j.bioactmat.2024.05.041.
47. Ribeiro N, Reis M, Figueiredo L, Pimenta A, Santos LF, Branco AC, Alves de Matos AP, Salema-Oom M, Almeida A, Pereira MFC, Colaço R, Serro AP. Improvement of a commercial calcium phosphate bone cement by means of drug delivery and increased injectability. *Ceram Int*. 2022;48(22):33361–33372. doi:10.1016/j.ceramint.2022.07.279.
48. Rial R, González-Durruthy M, Liu Z, Ruso JM. Advanced materials based on nanosized hydroxyapatite. *Molecules*. 2021;26(11):3190. doi:10.3390/molecules26113190.
49. Skliarenko Y, et al. The impact of the physicochemical properties of calcium phosphate ceramics on biocompatibility and osteogenic differentiation of MSCs. *BMC Res Notes*. 2024;17:295. doi:10.1186/s13104-024-06782-3.
50. Yilmaz B, Pazarçeviren AE, Tezcaner A, Evis Z. Historical development of simulated body fluids used in biomedical applications: A review. *Microchem J*. 2020;155:104713. doi:10.1016/j.microc.2020.104713.
51. Rabadjieva D, Tepavitcharova S, Sezanova K, Gergulova R. Chemical equilibria modeling of calcium phosphate precipitation and transformation in simulated physiological solutions. *J Solution Chem*. 2016;45:1620–1633. doi:10.1007/s10953-016-0528-0.

52. Furgiuele F, Boskovic L, Agranovski IE. Impact of Airborne Particle Morphology on Filtration Processes. *Materials*. 2025; 18(16):3781. <https://doi.org/10.3390/ma18163781>.
53. Istrate B, Cojocaru FD, Henea ME, Balan V, Şindilar EV, Verestiuc L, Munteanu C, Solcan C. In Vitro and In Vivo Analysis of the Mg-Ca-Zn Biodegradable Alloys. *J Funct Biomater*. 2024 Jun 17;15(6):166. doi: 10.3390/jfb15060166.
54. D'Onofrio A, Hill RG, Kent NW, Rawlinson SCF, Shahdad SA. Development of a novel formulation of bioactive glass based calcium phosphate cement for bone grafting. *Adv Funct Mater*. 2024;34(36):2401953. doi:10.1002/adfm.202401953.
55. Qian G, Wu T, Ye J. Hierarchically porous calcium phosphate scaffold with degradable PLGA microsphere network. *Mater Chem Phys*. 2023;301:127633. doi:10.1016/j.matchemphys.2023.127633.
56. Westhauser F, Hohenbild F, Arango-Ospina M, Schmitz SI, Wilkesmann S, Hupa L, Moghaddam A, Boccaccini AR. Bioactive Glass (BG) ICIE16 Shows Promising Osteogenic Properties Compared to Crystallized 45S5-BG. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(5):1639. <https://doi.org/10.3390/ijms21051639>.
57. Fiume E, Migneco C, Verné E, Baino F. Comparison between Bioactive Sol-Gel and Melt-Derived Glasses/Glass-Ceramics Based on the Multicomponent SiO₂-P₂O₅-CaO-MgO-Na₂O-K₂O System. *Materials*. 2020; 13(3):540. <https://doi.org/10.3390/ma13030540>.
58. Lu T, et al. Physicochemical properties, in vitro degradation, and biocompatibility of calcium phosphate cement incorporating PLGA particles with different morphologies: a comparative study. *ACS Omega*. 2021. doi:10.1021/acsomega.1c00031.
59. Łuczak JW, Palusińska M, Matak D, Pietrzak D, Nakielski P, Lewicki S, Grodzik M, Szymański Ł. The Future of Bone Repair: Emerging Technologies

- and Biomaterials in Bone Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(23):12766. <https://doi.org/10.3390/ijms252312766>.
60. Lodoso-Torrecilla I, van den Beucken JJJP, Jansen JA. Calcium phosphate cements: optimization toward biodegradability. *Acta Biomater*. 2021;119:1–12. doi:10.1016/j.actbio.2020.10.013.
61. Casanova EA, Rodriguez-Palomo A, Stähli L, Arnke K, Gröninger O, Generali M, Neldner Y, Tiziani S, Perez Dominguez A, Guizar-Sicairos M, Gao Z, Appel C, Nielsen LC, Georgiadis M, Weber FE, Stark W, Pape HC, Cinelli P, Liebi M. SAXS imaging reveals optimized osseointegration properties of bioengineered oriented 3D-PLGA/aCaP scaffolds in a critical size bone defect model. *Biomaterials*. 2023;294:121989. doi:10.1016/j.biomaterials.2022.121989.
62. Ma Q, Miri Z, Haugen HJ, Moghanian A, Loca D. Significance of mechanical loading in bone fracture healing, bone regeneration, and vascularization. *J Tissue Eng*. 2023 May 22;14:20417314231172573. doi:10.1177/20417314231172573.
63. Zhao L, Wang B, Feng S, Wu H. Preparation of composite calcium phosphate cement scaffold loaded with Hedysarum polysaccharides and its efficacy in repairing bone defects. *J Mater Sci Mater Med*. 2024;35(1):49. doi:10.1007/s10856-024-06818-7..
64. Wu L, Li Y, Fu Z, Su BL. Hierarchically structured porous materials: synthesis strategies and applications in energy storage. *Natl Sci Rev*. 2020 Aug 24;7(11):1667-1701. doi: 10.1093/nsr/nwaa183.
65. Abdollahi F, Saghatchi M, Paryab A, Malek Khachatourian A, Stephens ED, Toprak MS, Badv M. Angiogenesis in bone tissue engineering via ceramic scaffolds: a review of concepts and recent advancements. *Biomater Adv*. 2024;159:213828. doi:10.1016/j.bioadv.2024.213828.
66. Wu J, et al. Whisker of biphasic calcium phosphate ceramics: osteo-immunomodulatory behaviors. *Nano Res*. 2022. doi:10.1007/s12274-022-4591-0.

67. Jiao X, Wu F, Yue X, Yang J, Zhang Y, Qiu J, Ke X, Sun X, Zhao L, Xu C, Li Y, Yang X, Yang G, Gou Z, Zhang L. New insight into biodegradable macropore filler on tuning mechanical properties and bone tissue ingrowth in sparingly dissolvable bioceramic scaffolds. *Mater Today Bio*. 2024;24:100936. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100936.
68. Wu R, Li Y, Shen M, Yang X, Zhang L, Ke X, Yang G, Gao C, Gou Z, Xu S. Bone tissue regeneration: The role of finely tuned pore architecture of bioactive scaffolds before clinical translation. *Bioact Mater*. 2020 Nov 7;6(5):1242-1254. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.11.003.
69. Mukasheva F, Adilova L, Dyussenbinov A, Yernaimanova B, Abilev M, Akilbekova D. Optimizing scaffold pore size for tissue engineering: insights across various tissue types. *Front Bioeng Biotechnol*. 2024 Nov 12;12:1444986. doi: 10.3389/fbioe.2024.1444986.
70. Barba D, Alabort E, Reed RC. Synthetic bone: Design by additive manufacturing. *Acta Biomater*. 2019;97:637–656. doi:10.1016/j.actbio.2019.07.049.
71. Wang X, Nie Z, Chang J, Lu ML, Kang YQ. Multiple channels with interconnected pores in a bioceramic scaffold promote bone tissue formation. *Sci Rep*. 2021;11:20447. doi:10.1038/s41598-021-99819-4.
72. Chu S, Li L, Zhang J, You J, Li X, Zhou Y, Huang X, Wu Q, Chen F, Bai X, Tan H, Weng J. Hierarchical interconnected porous scaffolds with regulated interfacial nanotopography exhibit antimicrobial, alleviate inflammation, neovascularization, and tissue integration for bone regeneration. *Biomaterials*. 2025;318:123186. doi:10.1016/j.biomaterials.2025.123186.
73. Toosi S, Javid-Naderi MJ, Tamayol A, Ebrahimzadeh MH, Yaghoobian S, Mousavi Shaegh SA. Additively manufactured porous scaffolds by design for treatment of bone defects. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1252636. doi:10.3389/fbioe.2023.1252636.

74. Abbasi N, Hamlet S, Love RM, Nguyen N-T. Porous scaffolds for bone regeneration. *J Sci Adv Mater Devices*. 2020;5(1):1–9. doi:10.1016/j.jsamd.2020.01.007.
75. Kawai T. Preclinical Evaluation and Advancements in Vascularized Bone Tissue Engineering. *Biomimetics*. 2025; 10(7):412. <https://doi.org/10.3390/biomimetics10070412>.
76. Riaz M, Iqbal MZ, Klar AS, Biedermann T. Immunomodulatory mechanisms of chronic wound healing: translational and clinical relevance. *MedComm*. 2025;6(11):e70378. doi:10.1002/mco2.70378.
77. Jiang Y, Hu J, Zhang H, Zhou J, Yang X. Next-generation finely controlled graded porous antibacterial bioceramics for high-efficiency vascularization in orbital reconstruction. *Biomed Mater*. 2021;16(2):024104.
78. Schulze F, Lang A, Schoon J, Wassilew GI, Reichert J. Scaffold guided bone regeneration for the treatment of large segmental defects in long bones. *Biomedicines*. 2023;11(2):325. doi:10.3390/biomedicines11020325.
79. Jodati H, Yilmaz B, Evis Z. A review of bioceramic porous scaffolds for hard tissue applications: effects of structural features. *Ceram Int*. 2020;46(10):15725-15739. doi:10.1016/j.ceramint.2020.03.192. Nikolova MP, Chavali MS. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review. *Bioact Mater*. 2019;4:271-292.
80. Schulze F, Lang A, Schoon J, Wassilew GI, Reichert J. Scaffold Guided Bone Regeneration for the Treatment of Large Segmental Defects in Long Bones. *Biomedicines*. 2023 Jan 24;11(2):325. doi: 10.3390/biomedicines11020325.
81. Zhang L, Yang G, Johnson BN, Jia X. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomater*. 2019;84:16-33.
82. Demir-Oğuz Ö, Boccaccini AR, Loca D. Injectable bone cements: What benefits the combination of calcium phosphates and bioactive glasses could bring? *Bioact Mater*. 2022 Apr 20;19:217-236. doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.04.007.

83. Zhao L, Wang B, Feng S, Wu H. Preparation of composite calcium phosphate cement scaffold loaded with Hedysarum polysaccharides and its efficacy in repairing bone defects. *J Mater Sci Mater Med*. 2024 Aug 13;35(1):49. doi: 10.1007/s10856-024-06818-7.
84. Gao Q, Teissier V, Zhu W, Makarczyk MJ, Shinohara I, Murayama M, Susuki Y, Chow SK, Bunnell BA, Wu J, Lin H, Goodman SB. Personalized bone organoid using iPSC-derived cells for clinically relevant applications. *Res Sq [Preprint]*. 2024 Dec 13:rs.3.rs-5349885. doi: 10.21203/rs.3.rs-5349885/v1.
85. Luo Y. Toward Fully Automated Personalized Orthopedic Treatments: Innovations and Interdisciplinary Gaps. *Bioengineering*. 2024; 11(8):817. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11080817>.
86. Lee HJ, Kim YJ, Kim HW, Lee HH. Incorporation of chitosan-alginate complex into injectable calcium phosphate cement system as a bone graft material. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;94:385-392.
87. Vasile C, Pamfil D, Stoleru E, Baican M. New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers. *Molecules*. 2020; 25(7):1539. <https://doi.org/10.3390/molecules25071539>.
88. Mawazi SM, Kumar M, Ahmad N, Ge Y, Mahmood S. Recent Applications of Chitosan and Its Derivatives in Antibacterial, Anticancer, Wound Healing, and Tissue Engineering Fields. *Polymers (Basel)*. 2024 May 10;16(10):1351. doi: 10.3390/polym16101351.
89. Nezafati N, Moztafzadeh F, Hesaraki S. In vitro bioactivity and cytocompatibility of an injectable calcium phosphate cement/silanated gelatin microsphere composite bone cement. *Compos Part B Eng*. 2019;175:107146. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107146>.
90. Mocanu A-C, Miculescu F, Stan GE, Ciocoiu R-C, Corobea MC, Miculescu M, Ciocan LT. Preliminary Studies on Graphene-Reinforced 3D Products Obtained by the One-Stage Sacrificial Template Method for Bone Reconstruction Applications. *Journal of Functional Biomaterials*. 2021; 12(1):13. <https://doi.org/10.3390/jfb12010013>.

91. Shi H, Ye J, Liu J, Wang C. Synergistic effects of citric acid–sodium alginate on physicochemical properties of α -tricalcium phosphate bone cement. *Ceram Int*. 2019;45(2):2146-2152.
92. Zhong W, Zhang Y, Liu X, Chen L. Preparation and characterization of calcium phosphate cement with enhanced tissue adhesion for bone defect repair. *Ceram Int*. 2021;47(2):1712-1720. doi:10.1016/j.ceramint.2020.09.173.
93. Ramirez Caballero SS, Saiz E, Ginebra MP. Combination of biocompatible hydrogel precursors to apatitic calcium phosphate cements (CPCs): Influence of the in situ hydrogel reticulation on the CPC properties. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2021;109(1):102-116. doi:10.1002/jbm.b.34657.
94. Kucko NW, Herber RP, Leeuwenburgh SCG, Jansen JA. Sterilization effects on the handling and degradation properties of calcium phosphate cements containing poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) porogens and carboxymethyl cellulose. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019;107(7):2216-2228. doi:10.1002/jbm.b.34307.
95. Varun W, et al. Revisiting bone density: A review on Misch classification. *Int J Prostho Rehabil*. 2021;2(1):4-7.
96. Lyu M, Xu D, Zhang X, et al. Maxillary sinus floor augmentation: a review of current evidence on anatomical factors and a decision tree. *Int J Oral Sci*. 2023;15:41. doi:10.1038/s41368-023-00248-x.
97. Zhang L, Yang G, Johnson BN, Jia X. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomater*. 2019;84:16-33. doi:10.1016/j.actbio.2018.11.039.
98. Liang J, Liu Y, Chen S, Wang H, Zhang Y, Li Z, et al. Modification of titanium orthopedic implants with bioactive glass: a systematic review of in vivo and in vitro studies. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1269223. doi:10.3389/fbioe.2023.1269223
99. Dali SSM, et al. The osteogenic properties of calcium phosphate cement reinforced with synthetic materials: a review. *Materials*. 2023;16:xxxx. doi:10.3390/ma160x.

100. Liu X, et al. Calcium phosphate-based anti-infective bone cements. *Front Pharmacol.* 2025;16:1522225. doi:10.3389/fphar.2025.1522225.
101. Hiepe S, et al. In vivo degradation behaviour and osteoregenerative potential of magnesium-phosphate scaffolds. *Materials.* 2025;18:5067. doi:10.3390/ma18225067.
102. Jiang J, et al. Biomaterial-based strategies for bone cement: modulating the bone healing microenvironment. *J Nanobiotechnol.* 2025;23:xxx. doi:10.1186/s12951-025-03363-5.
103. Dorozhkin SV. Calcium orthophosphate-containing biocomposites and hybrid biomaterials for biomedical applications. *J Compos Sci.* 2024;8:218. doi:10.3390/jcs8060218.
104. Xia Y, Chen Z, Zheng Z, Chen H, Chen Y. Nanomaterial-integrated injectable hydrogels for craniofacial bone reconstruction. *J Nanobiotechnol.* 2024;22:525. doi:10.1186/s12951-024-02801-0.
105. Liu Y, Gao M, Yan Y, Wang X, Dong Z, Cheng L, Xu Y. Immunology in osseointegration after implantation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2025;113(4):e35566. doi:10.1002/jbm.b.35566.
106. Wu M, Chen F, Liu H, Wu P, Yang Z, Zhang Z, Su J, Cai L, Zhang Y. Bioinspired sandwich-like hybrid surface functionalized scaffold capable of regulating osteogenesis, angiogenesis, and osteoclastogenesis for robust bone regeneration. *Mater Today Bio.* 2022;17:100458. doi:10.1016/j.mtbio.2022.100458.
107. Liu Y, Lim J, Teoh SH. Review: Development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. *Biotechnol Adv.* 2022;54:107792. doi:10.1016/j.biotechadv.2021.107792.
108. Carreira AC, Alves GG, Zambuzzi WF, Sogayar MC, Granjeiro JM. Bone morphogenetic proteins: structure, biological function and therapeutic applications. *Arch Biochem Biophys.* 2014;561:64-73. doi:10.1016/j.abb.2014.07.011.

109. Wang RN, Green J, Wang Z, Deng Y, Qiao M, Peabody M, et al. Bone morphogenetic protein (BMP) signaling in development and human diseases. *Genes Dis.* 2022;9(1):14-32. doi:10.1016/j.gendis.2020.10.008.
110. James AW, LaChaud G, Shen J, Asatrian G, Nguyen V, Zhang X, et al. A review of the clinical side effects of bone morphogenetic protein-2. *Tissue Eng Part B Rev.* 2020;26(6):545-560. doi:10.1089/ten.TEB.2019.0196.
111. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, Mir HS, Yoon RS, Koval KJ. Autograft, allograft, and bone graft substitutes: clinical evidence and indications for use in the setting of orthopaedic trauma surgery. *J Orthop Trauma.* 2019;33(4):203-213. doi:10.1097/BOT.0000000000001420.
112. Zhang Q, Cornelissen M. Immunogenicity of allogeneic bone grafts and biomaterials in bone tissue engineering. *Biomater Adv.* 2022;134:112547. doi:10.1016/j.bioadv.2021.112547.
113. Schulze F, Lang A, Schoon J, Wassilew GI, Reichert J. Scaffold guided bone regeneration for the treatment of large segmental defects in long bones. *Biomedicines.* 2023;11(2):325. doi:10.3390/biomedicines11020325.
114. Chen Z, Klein T, Murray RZ, Crawford R, Chang J, Wu C, Xiao Y. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials. *Mater Today.* 2022;54:80-101. doi:10.1016/j.mattod.2022.02.005.
115. Chen Z, Klein T, Murray RZ, Crawford R, Chang J, Wu C, Xiao Y. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials. *Mater Today.* 2022;54:80-101. doi:10.1016/j.mattod.2022.02.005.
116. Vaishya R, Chauhan M, Vaish A. Bone graft substitutes: current concepts and future perspectives. *J Clin Orthop Trauma.* 2020;11(3):361-367. doi:10.1016/j.jcot.2019.05.014.
117. Zhang Y, Liu X, Zeng L, Zhang J, Zuo J, Zou J, Ding J, Chen X. Polymer-based composite scaffolds for bone tissue engineering: a review. *Bioact Mater.* 2019;4:363-373. doi:10.1016/j.bioactmat.2019.08.004.

118. Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Rossi F, Perale G. Bone grafts: which is the ideal biomaterial? *J Clin Periodontol.* 2019;46(Suppl 21):92-102. doi:10.1111/jcpe.13058.
119. Gomes YVR, Tavares AA, Barbosa RC, Tomaz AF, Sousa WJB, Oliveira LCC, Silva SML, Fook MVL. Biological responses to biomaterials: a review. *Braz J Med Biol Res.* 2025;58:e14599. doi:10.1590/1414-431X2025e14599.
120. Zhang Q, Cornelissen M. Immunogenicity of allogeneic bone grafts and biomaterials in bone tissue engineering. *Biomater Adv.* 2022;134:112547. doi:10.1016/j.bioadv.2021.112547.
121. Abdollahi F, Saghatchi M, Paryab A, Malek Khachatourian A, Stephens ED, Toprak MS, Badv M. Angiogenesis in bone tissue engineering via ceramic scaffolds: a review of concepts and recent advancements. *Biomater Adv.* 2024;159:213828. doi:10.1016/j.bioadv.2024.213828.
122. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2022;52:101484. doi:10.1016/j.smim.2021.101484.
123. Tsukasaki M, Takayanagi H. Osteoimmunology: evolving concepts in bone-immune interactions. *Nat Rev Immunol.* 2022;22(9):537-551. doi:10.1038/s41577-022-00687-3.
124. Okamoto K, Takayanagi H. Osteoimmunology. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019;9(1):a031245. doi:10.1101/cshperspect.a031245.
125. Vi L, Baht GS, Whetstone H, Ng A, Wei Q, Poon R, Mylvaganam S, Grynepas M, Alman BA. Macrophages promote osteoblastic differentiation in vivo: implications in fracture repair and bone homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2021;36(1):183-196. doi:10.1002/jbmr.4161.
126. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity.* 2021;44(3):450-462. doi:10.1016/j.immuni.2016.02.015.
127. Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annu Rev Pathol.* 2020;15:123-147. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718.\

128. Chen S, Yang J, Wei Y, Wei X. Macrophages in immunoregulation and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8:207. doi:10.1038/s41392-023-01452-1.
129. Zhao C, Liu X, Zhang Y. Macrophages in tissue repair and regeneration. *Inflamm Regen.* 2024;44:24. doi:10.1186/s13619-024-00195-w.
130. Batoon L, Millard SM, Raggatt LJ, Pettit AR. Osteomacs and bone regeneration. *Curr Osteoporos Rep.* 2022;20(6):503-514. doi:10.1007/s11914-022-00758-6.
131. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D.
132. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(1):438. doi:10.3390/ijms22010438.
133. Chen Z, Klein T, Murray RZ, Crawford R, Chang J, Wu C, Xiao Y. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials. *Mater Today.* 2021;44:168-186. doi:10.1016/j.mattod.2020.10.005.
134. Martin KE, García AJ. Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response. *J Biomed Mater Res A.* 2021;109(5):603-613. doi:10.1002/jbm.a.37006.
135. Yang J, et al. M1 macrophage-derived oncostatin M induces osteogenic differentiation through the JAK2/STAT3 signaling pathway. *JOR Spine.* 2023;6:e1290. doi:10.1002/jsp2.1290.
136. Sadtler K, Singh A, Wolf MT, Wang X, Pardoll DM, Elisseff JH. Design, clinical translation and immunological response of biomaterials in regenerative medicine. *Nat Rev Mater.* 2020;5(9):705-723. doi:10.1038/s41578-020-0207-7.
137. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 2014;6:13. doi:10.12703/P6-13.
138. Wang H, Kang J. Bone grafts and synthetic substitutes in dental applications: molecular mechanisms and clinical perspective. *Front Bioeng Biotechnol.* 2026;13:1759864. doi:10.3389/fbioe.2025.1759864.
139. Ren Y, et al. Macrophage polarization in heterotopic ossification. *Int J Mol Sci.* 2025;26:5821. doi:10.3390/ijms26125821.

140. Guihard P, Boutet MA, Brounais-Le Royer B, Gamblin AL, Amiaud J, Renaud A, et al. Oncostatin M, an inflammatory cytokine produced by macrophages, supports bone formation. *J Immunol.* 2015;195(2):593-600. doi:10.4049/jimmunol.1500158.
141. Troeltzsch M, Troeltzsch M, Kauffmann P, Gruber R, Brockmeyer P, Moser N, Schliephake H. Clinical efficacy of grafting materials in sinus floor augmentation: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Med.* 2021;10(2):357. doi:10.3390/jcm10020357.
142. Starch-Jensen T, Deluiz D, Tinoco EMB, et al. Histomorphometric comparison of autogenous bone and biphasic calcium phosphate in maxillary sinus augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2022;51(1):120-132. doi:10.1016/j.ijom.2021.04.009.
143. Shan E, Chamorro C, Ferrández-Montero A, Martín-Rodríguez RM, Ferrari B, Sanchez-Herencia AJ, Virto L, Marín MJ, Figuro E, Sanz M. In vitro biological properties assessment of 3D-printed hydroxyapatite–polylactic acid scaffolds intended for bone regeneration. *J Funct Biomater.* 2025;16(6):218. doi:10.3390/jfb16060218.
144. Blázquez-Carmona P, Mora-Macías J, Pajares A, Mármol Á, Reina-Romo E. On the influence of structural and chemical properties on the elastic modulus of woven bone under healing. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024. doi:10.3389/fbioe.2024.1476473.
145. Wang H, et al. T cell-related osteoimmunology in fracture healing. *Journal of Orthopaedic Translation.* 2025. doi:10.1016/j.jot.2024.12.004.
146. Murray PJ. Macrophage polarization. *Annu Rev Physiol.* 2020;82:541-566. doi:10.1146/annurev-physiol-021119-034339.
147. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2021;100(2):126-133. doi:10.1177/0022034520961459.
148. Yan L, et al. Macrophage plasticity: signaling pathways, tissue repair and therapeutic perspectives. *MedComm.* 2024. doi:10.1002/mco2.658.

149. Liu X, Wu F, Ji Y, Yin L. The role of IL-23/IL-17 axis in bone metabolism and inflammatory bone diseases. *Frontiers in Immunology*. 2023. doi:10.3389/fimmu.2023.1167425.
150. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*. 2021;236(2):883-902. doi:10.1002/jcp.29528.
151. Abdollahi F, Saghatchi M, Paryab A, et al. Angiogenesis in bone tissue engineering via ceramic scaffolds: a review of concepts and recent advancements. *Biomaterials Advances*. 2024;159:213828. doi:10.1016/j.bioadv.2024.213828.
152. Troeltzsch M, Troeltzsch M, Kauffmann P, Gruber R, Brockmeyer P, Moser N, Schliephake H. Clinical efficacy of grafting materials in sinus floor augmentation: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Med*. 2021;10(2):357. doi:10.3390/jcm10020357.
153. Yang T, Fang Z, Zhang J, Zheng S. Physical cues in biomaterials modulate macrophage polarization for bone regeneration: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2025;13:1640560. doi:10.3389/fbioe.2025.1640560.
154. Batoon L, Millard SM, Wullschleger ME, Preda C, Wu AC, Kaur S, et al. Osteal macrophages support osteoclast-mediated resorption and contribute to osteoporosis pathogenesis. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2021;36(7):1316-1331. doi:10.1002/jbmr.4413.
155. Weivoda MM, et al. Macrophages and bone remodeling. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2023. doi:10.1002/jbmr.4761.
156. Iglesias-Velazquez O, et al. OsteoMac: a new player on the bone biology scene. *Biochimie*. 2024. doi:10.1016/j.biochi.2024.02.002.

157. Kosinov O, Manukhina O, Volchykhina K, Mishchenko O, Liutyi A, Ramanaviciute A, Ratautaite V, Ramanavicius A. Cross-Sectional Clinical Evaluation of Subantral Augmentation Using Nano Graft Composite: Implications for Implant Success. *Dentistry Journal*. 2026; 14(1):57. <https://doi.org/10.3390/dj14010057>
158. Mishchenko O, Yanovska A, Sulaieva O, Moskalenko R, Pernakov M, Husak Y, Korniienko V, Deineka V, Kosinov O, Varakuta O, et al. From Synthesis to Clinical Trial: Novel Bioinductive Calcium Deficient HA/ β -TCP Bone Grafting Nanomaterial. *Nanomaterials*. 2023; 13(12):1876. <https://doi.org/10.3390/nano13121876>
159. Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O, et al. Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. *Polymers (Basel)*. 2023;15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822
160. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення структурного складу біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів за допомогою матеріалу Нанографт (NanoGraft) / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. *Патологія*. 2025. Т. 22, № 2(64). С. 141-147. DOI: 10.14739/2310-1237.2025.2.333002
161. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення імуногенності біоматеріалу Нанографт (NanoGraft) із зони аугментації верхньощелепних синусів / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. *Запорізький медичний журнал*. 2025. Т. 27, № 6(153). С. 487-494 DOI: 10.14739/2310-1210.2025.6.335692
162. Морфологічний аналіз якості кісткового регенерату в зоні аугментації нового HA/B-TCP/ О.С. Косінов //XXIV International scientific and practical conference “Information and innovative technologies in education in modern

- conditions” : Матер. наук.-практ. конф. (Варна, Болгарія, 20-13.06.2023). – С.157-158.
163. Гістоморфометричний аналіз кісткової тканини, отриманої за допомогою аугментації нанографт/ О.С. Косінов // Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” : Матер. наук.-практ. конф. (Полтава, 16.06.2023). – С. 57-58.
164. Створення та аналіз оптимізованого кісткового композиту з підвищеним ефектом біосумісності/ О.С. Косінов // “Promising ways of improving science and scientific solutions”: Матер. наук.-практ. конф. (Варшава, Польща, 26-28.06.2023). – С. 93-95.
165. Клінічний аналіз якісного складу аугментату після відкритого синусліфтіngu / О.С. Косінов // “Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice”: Матер. наук.-практ. конф. (Ізмаїл, 22.12.2023). – С. 100.
166. Аналіз торку при установці імплантату в ділянку субантральної аугментації та власну кістку/ О.С. Косінов //“Current issues of science, education and technology in Ukraine and the world”: Матер. наук.-практ. конф. (Тампере, Фінляндія, 29.12.2023). – С. 51-52.
167. Оцінка ступеню васкуляризації кістки після субантральної аугментації, / О.С. Косінов //“Current state and priorities of modernization of science, education and technology”: Матер. наук.-практ. конф. (Біла Церква, 10.01.2024). – С. 71-72.

ДОДАТОК А

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Фізична особа-підприємець
Оніпко Євген Леонідович

"15" Травня 2024 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва впровадження:** Клініко-лабораторне обґрунтування використання нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу при субантральній аугментації.
- Установа розробник:** Запорізький державний медико-фармцевтичний університет, Запоріжжя, 69061 проспект Маяковського, 46.
- Джерело інформації:** Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. Mishchenko, O., Yanovska, A., Kosinov, O., Ramanavicius, A., Pogorielov, M. Polymers 2023, 15(18), 3822 doi.org/10.3390/polym15183822
- Впроваджено:** в лікувальну роботу фізичної особи-підприємця Оніпко Євгена Леонідовича, м. Запоріжжя, вул. Перемоги, 80, стоматологічний кабінет.
- Термін впровадження:** з грудня 2021 року по травень 2024 року.
- Загальна кількість клінічних спостережень:** 25
- Ефективність впровадження:** Запропонований матеріал для субантральної аугментації сприяв досягненню швидкого та стійкого клінічного ефекту при реабілітації хворих з адентією. Побічні явища і ускладнення не спостерігалися.
- Пропозиції:** Пропонується подальше впровадження в стоматологічну практику.



Товариство з обмеженою відповідальністю
"СТОМАТОЛОГІЧНА СТУДІЯ "СМАЙЛ+""

69063, м. Запоріжжя	www.studio-smile.com.ua	p/p UA83334851000000026004126746
вул.Базарна, б. 14-В, кв. 20	info@studio-smile.com.ua	в АТ «ПУМБ»
(066) 455-66-86, (067) 455-66-89	Facebook: dentalstudiosmile.zp	МФО 334851
(068) 455-66-89	Instagram: studiosmile.zp	ЄДРПОУ 43788479

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор
ТОВ «Стоматологічна студія Смайл+»
Шлякова Т.П.



Акт впровадження

- Назва впровадження:** Клініко-лабораторне обґрунтування використання нового гідроксиапатит-трикальційфосфатного композитного матеріалу при субантральній аугментації.
- Установа розробник:** Запорізький державний медико-фармцевтичний університет, Запоріжжя, 69061 проспект Маяковського, 46.
- Джерело інформації:** Synthetic Calcium–Phosphate Materials for Bone Grafting. Mishchenko, O., Yanovska, A., Kosinov, O., Ramanavicius, A., Pogorielov, M. Polymers 2023, 15(18), 3822 doi.org/10.3390/polym15183822
- Впроваджено:** в лікувальну роботу ТОВ «Стоматологічна студія «Смайл+» (м. Запоріжжя, вул. Петра Сагайдачного, буд 2, прим. 20А).
- Термін впровадження:** з грудня 2021 року по травень 2024 року.
- Загальна кількість клінічних спостережень:** 25.
- Ефективність впровадження:** запропонований матеріал для субантральної аугментації сприяв досягненню швидкого та стійкого клінічного ефекту при реабілітації хворих з адентією. Побічні явища і ускладнення не спостерігалися.
- Пропозиції:** Пропонується подальше впровадження в стоматологічну практику.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. директора Університетського
стоматологічного центру
Філії «УЛ» ХНМУ
Сергій ПИМОРТІН



2025р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Новий біоіндуктивний наноматеріал для кісткової трансплантації.
(назва пропозиції для впровадження)¹
2. Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя пр. Маяковського 26 Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O
(установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів)¹
3. Джерело інформації: Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. Polymers (Basel). 2023; 15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822
(назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо)
4. Впроваджено: в лікувальний процес стоматологічного відділення УСЦ ХНМУ
5. Строки впровадження: з 12.2023 по 05.2024 р.р.
6. Загальна кількість спостережень: 34
7. Ефективність впровадження: отримані результати впроваджені в лікувальний процес пацієнтів стоматологічного відділення.
8. Зауваження, додатки немає

Відповідальний за впровадження:

Завідувач стоматологічним відділенням

«__» _____ 2025 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з науково-педагогічної
роботи Харківського національного
медичного університету,

доцент Олександр КРИВОШАПКА



» _____ 2025р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Новий біоіндуктивний наноматеріал для кісткової трансплантації.
(назва пропозиції для впровадження)¹
2. Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя пр. Маяковського 26 Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O
(установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів)¹
3. Джерело інформації: Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. Polymers (Basel). 2023; 15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822
(назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо)
4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри ортопедичної стоматології
5. Строки впровадження: з 12.2023 по 05.2024 р.р.
6. Загальна кількість спостережень: 34
7. Ефективність впровадження: отримані результати впроваджені в лекційний матеріал, практичні та семінарські заняття, самостійну роботу студентів, інтернів та курсантів.
8. Зауваження, додатки немає

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри ортопедичної стоматології
Харківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор

Янішен І.В.

« ____ » _____ 2025 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти

з науково-педагогічної роботи

Буковинського державного медичного університету

к. мед. н., доцент

Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ

« 21 » 05

2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування впровадження:** «Новий біоіндуктивний наноматеріал для кісткової трансплантації».

2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, бульвар Марії Приймаченко 26, Україна. UA)

3. **Автори:** Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O.

4. **Джерело інформації:** стаття у виданні, яке включено до наукометричної бази Scopus, Q1:

Mishchenko, O.; Yanovska, A.; Kosinov, O.; Maksymov, D.; Moskalenko, R.; Ramanavicius, A.; Pogorielov, M. Synthetic Calcium–Phosphate Materials for Bone Grafting. *Polymers (Basel)*. 2023; 15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822.

5. **Базова установа, що проводить впровадження:** кафедра ортопедичної стоматології Буковинського державного медичного університету.

6. **Термін впровадження:** 11.12.2023 –31.05.2024.

7. **Пропозиції:** рекомендовано впровадження в освітній процес зі студентами 5 курсу стоматологічного факультету під час читання лекцій та проведення практичних занять при вивченні питань застосування матеріалів для кісткової пластики при проведенні дентальної імплантації.

8. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри ортопедичної стоматології Буковинського державного медичного університету, протокол № 22 від «01 » травня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор закладу вищої освіти
кафедри ортопедичної стоматології,
д. мед. н., професор

« ___ » _____ 2025 р.

Олександр БЄЛІКОВ

ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kosinov O, Manukhina O, Volchykhina K, Mishchenko O, Liutyi A, Ramanaviciute A, Ratautaite V, Ramanavicius A. Cross-Sectional Clinical Evaluation of Subantral Augmentation Using Nano Graft Composite: Implications for Implant Success. *Dentistry Journal*. 2026; 14(1):57. <https://doi.org/10.3390/dj14010057> (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Volchykhina K. – технічне оформлення статті; Manukhina O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Liutyi A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanaviciute A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ratautaite V. – технічне оформлення статті; Ramanavicius A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
2. Mishchenko O, Yanovska A, Sulaieva O, Moskalenko R, Pernakov M, Husak Y, Korniienko V, Deineka V, Kosinov O, Varakuta O, et al. From Synthesis to Clinical Trial: Novel Bioinductive Calcium Deficient HA/ β -TCP Bone Grafting Nanomaterial. *Nanomaterials*. 2023; 13(12):1876. <https://doi.org/10.3390/nano13121876> (Дисертантом проведено збір та розробку матеріалів, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті; Sulaieva O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Moskalenko R. – допомога у

- статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Pernakov M. – аналіз отриманих результатів; Husak Y. – технічне оформлення статті; Korniienko V. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Deineka V. – технічне оформлення статті; Varakuta O. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanavicius S. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних ; Varzhapetjan S. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanaviciene A. – технічне оформлення статті; Krumina D. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних ; Kniņše G. – технічне оформлення статті ; Ramanavicius A. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Pogorielov M. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
3. Mishchenko O, Yanovska A, Kosinov O, et al. Synthetic Calcium-Phosphate Materials for Bone Grafting. *Polymers (Basel)*. 2023;15(18):3822. Published 2023 Sep 19. DOI:10.3390/polym15183822 (Дисертантом проведено збір та аналіз літературних джерел, аналіз отриманих результатів, написання статті; Mishchenko O. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті; Yanovska A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Maksymov D. – технічне оформлення статті; Moskalenko R. – допомога у статистичній обробці даних, аналіз та інтерпретація даних; Ramanavicius A. – технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних; Pogorielov M. – аналіз отриманих результатів)
4. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення структурного складу біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів за допомогою матеріалу Нанографт (NanoGraft) / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. *Патологія*. 2025.Т. 22, № 2(64).С. 141-147. DOI: 10.14739/2310-1237.2025.2.333002 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення,

- статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Міщенко О. М. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
5. Косінов О. С., Міщенко О. М. Визначення імуногенності біоматеріалу Нанографт (NanoGraft) із зони аугментації верхньощелепних синусів / О. С. Косінов, О. М. Міщенко. Запорізький медичний журнал. 2025. Т. 27, № 6(153). С. 487-494 DOI: 10.14739/2310-1210.2025.6.335692 (Дисертантом проведено курацію та відбір хворих для дослідження згідно критеріям включення та виключення, статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написання статті; Міщенко О. М. – концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті, технічне оформлення статті, аналіз та інтерпретація даних)
 6. Косінов О. С., Міщенко О. М. Морфологічний аналіз якості кісткового регенерату в зоні аугментації нового HA/B-TCР. XXIV International scientific and practical conference “Information and innovative technologies in education in modern conditions” : Матер. наук.-практ. конф. (Варна, Болгарія, 20-13.06.2023). С.157-158. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. – остаточне затвердження тез)
 7. Косінов О. С., Міщенко О. М. Гістоморфометричний аналіз кісткової тканини, отриманої за допомогою аугментації нанографт. Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” : Матер. наук.-практ. конф. (Полтава, 16.06.2023). С. 57-58. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
 8. Косінов О. С., Міщенко О. М. Створення та аналіз оптимізованого кісткового композиту з підвищеним ефектом біосумісності. Promising ways of improving science and scientific solutions: Матер. наук.-практ.

- конф. (Варшава, Польща, 26-28.06.2023). С. 93-95. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
9. Косінов О. С., Міщенко О. М. Клінічний аналіз якісного складу аугментату після відкритого синусліфтингу. Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice: Матер. наук.-практ. конф. (Ізмаїл, 22.12.2023). С. 100. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
10. Міщенко О. М., Косінов О. С. Аналіз торку при установці імплантату в ділянку субантральної аугментації та власну кістку. Current issues of science, education and technology in Ukraine and the world: Матер. наук.-практ. конф. (Тампере, Фінляндія, 29.12.2023). С. 51-52. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)
11. Міщенко О. М., Косінов О. С. Оцінка ступеню васкуляризації кістки після субантральної аугментації. Current state and priorities of modernization of science, education and technology: Матер. наук.-практ. конф. (Біла Церква, 10.01.2024). С. 71-72. (Дисертантом проведено написання тез; Міщенко О. М. –остаточне затвердження тез)

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. XXIV міжнародна науково-практична конференція “Information and innovative technologies in education in modern conditions” (Varna, Bulgaria, 20-23 червня 2023);

2. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю “Сучасний стан та перспективи розвитку науки, освіти, технологій і суспільства” (м. Полтава, 16.06.2023 року);

3. XXV міжнародна науково-практична конференція “Promising ways of improving science and scientific solutions” (Warsaw, Poland, 26-28 червня 2023);

4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю “Promising directions for the development of science, education and technology: theory and practice” (Ізмаїл, 22.12.23);

5. Міжнародна науково-практична конференція “Current issues of science, education and technology in ukraine and the world” (Tampere, Finland 29.12.23);

6. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю “Current state and priorities of modernization of science, education and technology” (Біла Церква, 10.01.24)

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:03:06 20.04.2026

Назва файлу з підписом: Косінов О. текст дисертації 2026.doc.p7s

Розмір файлу з підписом: 19.5 КБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Косінов О. текст дисертації 2026.doc

Розмір файлу без підпису: 48.8 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Косінов Олексій Сергійович

П.І.Б.: Косінов Олексій Сергійович

Країна: Україна

РНОКПП: 3349014791

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:02:58 20.04.2026

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 514B5C86A1E5DA1104000000E622760173589F05

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в окремих файлах (CAAdES detached)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2026.04.06 13:00