

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК АУТОТРАНСПЛАНТАТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Г. В. Максимов^{1,4}✉, Т. И. Сашкина², Д. К. Фасхутдинов³, О. В. Слатинская¹, И. В. Салдусова⁵, О. В. Зайченко⁵

¹ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

² Российский научно-исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

³ Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

⁴ Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

⁵ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

В настоящее время большой интерес представляют биофизические исследования, результаты которых важны для формирования методологии диагностики состояния ткани и клеток в клинической практике. Целью данной работы было продиагностировать изменения состава и конформации молекул клеток и ткани нижней челюсти пациента с помощью оптического неинвазивного метода (спектроскопия комбинационного рассеяния (КР)). Данный методический подход предложен для повышения информативности и эффективности исследования состава аутоотрансплантатов, полученных для аугментации альвеолярных отростков при дефиците костной ткани (планируемая костная пластика). В исследовании использовали образцы костной ткани троих пациентов в возрасте 51–73 лет, двоих мужчин и одной женщины. В костной ткани обнаружены КР-сигналы, свидетельствующие о наличии фосфатных групп и карбонат-ионов (типа CO_3^{2-}) минеральных компонентов кости. Маркерами молекул околокостной ткани могут быть полосы, которые свидетельствуют о наличии коллагена, гемоглобина эритроцитов, белков (С–N-связи), липидов (С–Н-групп жирных кислот и фосфатных групп фосфолипидов), а также их ОН-групп. Показана принципиальная возможность исследования отдельных клеток аутоотрансплантатов с помощью маркеров, свидетельствующих о наличии коллагена, гемоглобина, белков и липидов (С–Н-групп жирных кислот липидов; фосфатных групп фосфолипидов), и их ОН-групп. По мнению авторов, результаты могут служить основой для формирования новой методологии диагностики костных аутоотрансплантатов с помощью совмещения КР-спектроскопии и световодов.

Ключевые слова: аутоотрансплантат, имплантат, костная ткань, спектроскопия комбинационного рассеяния.

Вклад авторов: Г. В. Максимов — планирование работы, анализ результатов; Т. И. Сашкина — планирование работы, анализ научной литературы; Д. К. Фасхутдинов — сбор и анализ исследуемого материала, проведение операций аугментации костной ткани; О. В. Слатинская — обработка полученного материала; И. В. Салдусова — анализ полученных результатов; О. В. Зайченко — техническая поддержка.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Центральной государственной медицинской академии Управления делами Президента Российской Федерации (протокол № 3 от 23 сентября 2020 г.); все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании; работы с биоматериалами проведены с соблюдением требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

✉ **Для корреспонденции:** Георгий Владимирович Максимов
Воробьевы горы, д. 1, корп. 24, г. Москва, 117042; gmaksimov@mail.ru

Статья получена: 13.05.2021 **Статья принята к печати:** 31.05.2021 **Опубликована онлайн:** 17.06.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.028

MOLECULAR AND CELLULAR FEATURES OF MANDIBULAR AUTOGRAFTS STUDIED USING RAMAN SPECTROSCOPY

Maksimov GV^{1,4}✉, Sashkina TI², Fashutdinov DK³, Slatinskaya OV¹, Saldusova IV⁵, Zaychenko OV⁵

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

⁴ National University of Science and Technology MISIS, Moscow, Russia

⁵ Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russia

Currently, biophysical studies are of great interest, the results of which are important for development of a method for diagnosis of the cells and tissue condition to be used in clinical practice. The study was aimed to use a non-invasive optical method (Raman spectroscopy) for assessment of changes in the composition and conformation of the molecules of the patient's mandibular cells and tissues. This approach was proposed to increase the informativeness and effectiveness of studying the composition of autografts harvested for augmentation of alveolar processes with bone tissue deficiency (elective bone grafting). In the course of the study the bone tissue samples obtained from three patients aged 51–73 (two men and one woman) were assessed. Raman signals were detected, indicating the presence of phosphate groups and carbonate ions (such as CO_3^{2-}) of the inorganic bone components. Raman bands indicating the presence of collagen, red blood cell hemoglobin, proteins (C–N bonds), lipids (C–H groups of fatty acids and phosphate groups of phospholipids), as well as their OH groups may be considered the markers of periosteum tissue. The general possibility was suggested of studying single cells of autografts using the markers, indicating the presence of collagen, hemoglobin, proteins, lipids (C–H groups of fatty acids of lipids; phosphate groups of phospholipids), and their OH groups. According to the authors, the results obtained can provide a basis for development of the new method for diagnosis of autograft bone using the combination of Raman spectroscopy and light guides.

Keywords: autograft, implant, bone tissue, Raman spectroscopy

Author contribution: Maksimov GV — study planning, analysis of the results; Sashkina TI — study planning, literature analysis; Fashutdinov DK — data acquisition and analysis, performing bone grafting; Slatinskaya OV — data processing; Saldusova IV — data analysis; Zaychenko OV — technical support.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs of the Russian Federation (protocol № 3 dated September 23, 2021); the informed consent was submitted by all participants; biomaterials were treated in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Georgy V. Maksimov
Leninskie Gory, 1, str. 24, Moscow, 117042; gmaksimov@mail.ru

Received: 13.05.2021 **Accepted:** 31.05.2021 **Published online:** 17.06.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.028

Известно, что дентальную имплантацию успешно используют для коррекции зубных рядов при частичной или полной адентии [1, 2]. Нередко к стоматологам обращаются пациенты со значительным дефицитом костной ткани в области альвеолярного отростка и части челюсти, что предполагает вмешательство по поводу увеличения объема костной ткани перед установкой имплантатов. При аугментации костной ткани используют алло- и аутоотрансплантаты, при этом аутоотрансплантаты предпочтительнее [3, 4]. Для этой процедуры подходит кортикальная аутокость из разных внеротовых областей организма: гребень подвздошной кости, свода черепа, участки большой берцовой кости, скуловой кости, а также внутриротовые (ветви нижней челюсти, участки ретромолярной области, подбородочная область). Внутриротовые аутоотрансплантаты используют чаще, поскольку их получение менее инвазивно, хирургический доступ более удобен, требуется меньше времени для установки. Важно также, что сокращается расстояние между донорской и реципиентской зоной [5, 6].

Процессы остеорегенерации зависят от ряда факторов: микроархитектоники, плотности кости, соотношения кортикальной и губчатой составляющих, уровня про- и противовоспалительных цитокинов, маркеров деструкции и восстановления костной ткани [7–10]. Известно, что челюсти — это плоские губчатые кости, состоящие из трабекул. Трабекулы формируют каркас для красного костного мозга, в котором происходит кроветворение и образуются клетки крови [11]. Пластинки трабекул на 95% образованы коллагеном 1-го типа, кроме того, в них присутствуют коллагены 3-, 4-, 5-, 11- и 12-го типов (оставшиеся 5%). В межклеточном пространстве имеются неколлагеновые белки остеокальцин, остеоонектин, остеопонтин, костные сиалопротеины, фосфопротеины, морфогенетические белки и протеогликаны. Кроме того, оно включает гликопротеины: щелочную фосфатазу, остеоонектин, тромбоспондин, фибронектин, витронектин, остеопонтин, сиалопротеин, Wht-гликопротеины. Минеральные компоненты занимают 30% состава костной ткани и представлены кристаллами гидроксиапатита. В состав кости входят также регуляторы стабильности гидроксиапатита — магний, стронций и марганец.

Клеточный состав костной ткани включает остеопрогениторные клетки (ранние предшественники остеобластов), остеобласты, остеоциты, выстилающие клетки и остеокласты. Зрелые остеобласты синтезируют коллаген 1-го типа, протеогликаны и остеокальцин. Незрелые прилегают непосредственно к надкостнице. В их цитоплазме в небольшом количестве имеются гранулы гликогена. Функция остеобластов — синтезировать органический матрикс кости, цитокины, факторы роста. Маркерами остеобластов служат щелочная фосфатаза и остеокальцин (основной маркер регенерации костной ткани). Окончательный этап дифференцировки остеобластов — образование остеоцитов. Они не синтезируют костный матрикс, участвуют в остеоллизе и обеспечивают транспортно-обменные процессы. Резорбцию костной ткани осуществляют крупные многоядерные клетки остеокласты. Они секретируют ионы водорода и ферменты катепсин и коллагеназу, лизирующие органический матрикс. Маркером остеокластов является кислая фосфатаза. Губчатая ткань снаружи покрыта кортикальной костью, а та в свою очередь надкостницей (периостом), в которой проходят питающие кость сосуды. Внутренний слой периоста содержит клетки-

предшественники остеобластов, обеспечивающие рост и обновление кости [11]. Изучение структуры костной ткани и ее составляющих имеет принципиальное значение для оценки и прогноза течения процессов регенерации, остеогенеза и остеointеграции при дентальной имплантации [12].

Очевидно, что в стоматологическую практику важно внедрять современные оптические методы, позволяющие эффективно, надежно и неинвазивно определять локализацию компонентов костной ткани, ротовой жидкости, а также продуктов периферической крови, для контроля структуры, резорбции и ремоделирования костной ткани. Оценка процессов интеграции при имплантации и аугментации в альвеолярных отростках актуальна для хирургической стоматологии и имеет принципиальное значение, поскольку определяет успех лечения.

Своевременная диагностика нарушений процессов остеointеграции и восстановления костной ткани крайне необходима. Известны маркеры резорбции, регенерации и протекторы костной ткани. Существует ряд методов, с помощью которых их можно определить. Биохимический анализ позволяет оценить результаты лечения и профилактики осложнений, но требует довольно большое количество анализируемого материала. Более точной является газовая хроматография, преимущество которой заключается в высокой достоверности результатов. Недостатком этого метода можно считать значительную сложность исследования, высокую стоимость, большие временные затраты на интерпретацию результатов и необходимость экспертной оценки.

В последние годы в биологии и медицине используют множество оптических методов. Одним из них является спектроскопия комбинационного рассеяния — оптический метод, обладающий высокой чувствительностью, позволяющей быстро и точно определять состав и конформацию молекул биологических объектов: клетки, их фрагменты, бактерии, вирусы, белки пептиды, липиды [13, 14]. Отметим, что в стоматологии появляются исследования с применением не только КР, но и спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) [15]. Этот подход обладает высокой чувствительностью и использовался для идентификации основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов в челюстно-лицевой области [16]. Важно, что с помощью ГКР выявлены индивидуальные маркеры возбудителей: у бактерии *Bacillus subtilis* выявлены пики на 657, 726, 1248, 1377, 1466, 1617 см^{-1} ; у *E. coli* — на 1140, 1551 см^{-1} ; у *S. aureus* — на 959, 1006, 1160, 1284, 1530 см^{-1} ; у *S. haemolyticus* — на 1327, 1369; для *Ps. aeruginosa* — на 675, 1353, 1404, 1605, 1630 см^{-1} . Таким образом, по спектрам ГКР в ходе лечения, можно выявить причину воспаления. Однако этот подход требует дальнейшего и детального апробирования на практике, так как для реализации ГКР необходимо использовать наночастицы (коллоиды серебра или золота), токсическое действие которых на состояние ткани и клеток ротовой полости пациента пока не известно.

Учитывая информативность и эффективность, отсутствие длительной пробоподготовки спектроскопии КР, важна разработка технологии оценки остеointеграции при дентальной имплантации с помощью метода КР для определения состояния костных аутоотрансплантатов и поиска маркеров остеогенеза, резорбции и остеointеграции в процессах репаративной регенерации.

Целью работы было исследовать молекулярно-клеточный состав аутоотрансплантатов с помощью спектроскопии КР.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании проводили аугментацию костной ткани челюстей перед установкой имплантатов. Для этого пациентам проводили операцию по увеличению объема костной ткани с помощью аутоотрансплантата, состояние которого затем изучали. Объектом исследования были четыре образца кортикально-губчатой костной ткани, полученные в ходе хирургического вмешательства из ретромолярных областей нижней челюсти справа и слева (см. таблицу). Исследовали четыре аутоотрансплантата, взятых у троих пациентов в возрасте 51–73 лет, двоих мужчин и одной женщины. Критерии включения в исследование: отсутствие соматической патологии; костный дефект нижней челюсти средних размеров; отсутствие лекарственной непереносимости; возраст от 40 до 60 лет. Критерии исключения: наличие серьезной соматической патологии; лекарственная непереносимость; костный дефект нижней челюсти больших размеров; возраст моложе 40 лет и старше 60.

Ход операции по выделению костного блока из донорской области

Под проводниковой и инфильтрационной анестезией (sol. Articaini 3,4 мл) производили разрез по вершине альвеолярного отростка части нижней челюсти в области отсутствующих зубов, отслаивали слизисто-надкостничный лоскут, скелетировали альвеолярную часть нижней челюсти, определяли дефицит костной ткани по ширине или высоте. Под проводниковой и инфильтрационной анестезией (sol. Articaini 3,4 мл) проводили разрез в ретромолярной области слева и справа длиной 3 см, отслаивали слизисто-надкостничный лоскут. При помощи диска с защитным протектором и фиссурного бора производили забор аутоотрансплантата размером 2 × 1 × 0,3 см или 1,5 × 1 × 0,3 см. Костный аутоотрансплантат разделяли на две тонкие костные пластинки при помощи дисков. Рану ушивали, используя Викрил 4-0.

Образцы костных аутоотрансплантатов (размером около 0,1 мм) помещали в стеклянные капилляры диаметром поперечного сечения, равным 1 мм («Агат-Мед»; Россия) с буфером (145 mM NaCl, 5 mM KCl, 4 mM Na₂HPO₄, 1 mM NaH₂PO₄, 1 mM MgSO₄, 5 mM глюкозы (Sigma; США), pH 7,4) и хранили при температуре 4 °C не более 3 ч.

Методом микроскопии КР исследовали морфологию объекта и молекулярный состав костной ткани, мягких тканей и клеток нижней челюсти. В работе использовали конфокальный микроскоп-спектрометр NTEGRA-SPECTRA (NT-MDT; РФ) с регистрацией в диапазоне 1000–3000 см⁻¹, с шагом измерения 0,8 см⁻¹, регистратор — CCD детектор с Пельтье-охлаждением –50°C (объектив 20× с апертурой 0,15, решетка — 600 штр/мм); мощность лазера на образце составляла не более 3 мВт, длина волны возбуждения —

532 нм, время регистрации одного спектра — 10 с, число накопленных сигнала — 3. Число повторов для каждого эксперимента (образец) — 12. Обработка спектров включала в себя вычитание базовой линии и сглаживание спектров в программе Origin2017 (OriginLab Corporation; США).

Пилотное исследование выполняли с целью выяснения возможности использовать метод КР для оценки состояния тканей челюстно-лицевой области, статистическую обработку не проводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе работы были получены изображения материала и КР-спектры компонентов аутоотрансплантатов (костной ткани, мягких тканей и клетки) из ретромолярной области.

КР-спектры костной ткани аутоотрансплантатов, полученных из ретромолярной области

В результате анализа маркеров костной ткани аутоотрансплантатов в данной серии экспериментов было обнаружено, что КР-спектр образцов включает ряд характерных полос, которые соответствуют коллагену, фосфатным группам, PO₄³⁻-апатиту, карбонат-иону В (типа CO₃⁻²), а также адсорбированным на поверхности клеток молекулам белков (деформационное колебание N–H и валентное C–N белка), липидам (C–H-группы жирных кислот липидов) и их OH-группам.

Так, в КР-спектре пациента у объекта № 2 выявлен ряд полос, которые соответствуют фосфатным группам PO₄³⁻ (563, 943, 975 см⁻¹), коллагену (1270 см⁻¹), карбонат-иону В типа CO₃⁻² (1025, 1051 см⁻¹), белкам и липидам (C–H-группам жирных кислот липидов — 2862, 2890, 2946 см⁻¹) и их OH-группам (3192, 3420, 3559, 3635 см⁻¹) (рис. 1). Выявлен ряд полос, которые соответствуют фосфатным группам (426, 583, 938 см⁻¹), карбонат-иону В типа CO₃⁻² (1009, 1023, 1056 см⁻¹), белкам (деформационное колебание N–H и валентное C–N белка — 1607 см⁻¹), липидам (C–H-группам жирных кислот липидов — 2857, 2889, 2948 см⁻¹) и их OH-группам (3204, 3408, 3621 см⁻¹), а также ряд полос, которые характеризуют минеральный состав костной ткани: фосфатные группы PO₄⁻³ (415, 457, 570, 580, 892, 936 см⁻¹ (фосфатная группа апатита)), карбонат В типа CO₃⁻² (1007, 1022, 1050 см⁻¹) и OH-группы липидов и белков — 3209, 3399, 3625 см⁻¹). Обнаружены полосы, которые характеризуют минеральный состав ткани: фосфатные группы PO₄³⁻ (567, 582, 941 см⁻¹), а также карбонат В типа CO₃⁻² (1004, 1021, 1054 см⁻¹) и OH-группы адсорбированных белков и липидов (2952, 3214, 3620 см⁻¹) (см. рис. 1).

КР-спектры ткани аутоотрансплантатов, полученных из ретромолярной области

При разработке маркеров для выявления компонентов ткани аутоотрансплантатов в ходе операции установлено, что спектр КР характеризуют ряд полос, соответствующих

Таблица. Объекты исследования

1 Б-в Р.Е.	Ретромолярная область	1969	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова
2 А-а С.Г.	Ретромолярная область	1947	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова
3 П-а М.Л.	Ретромолярная область	1961	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова
4 П-а М.Л.	Область адентии 6 зуба на нижней челюсти	1961	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова	КЦС 2 МГМСУ им. Евдокимова

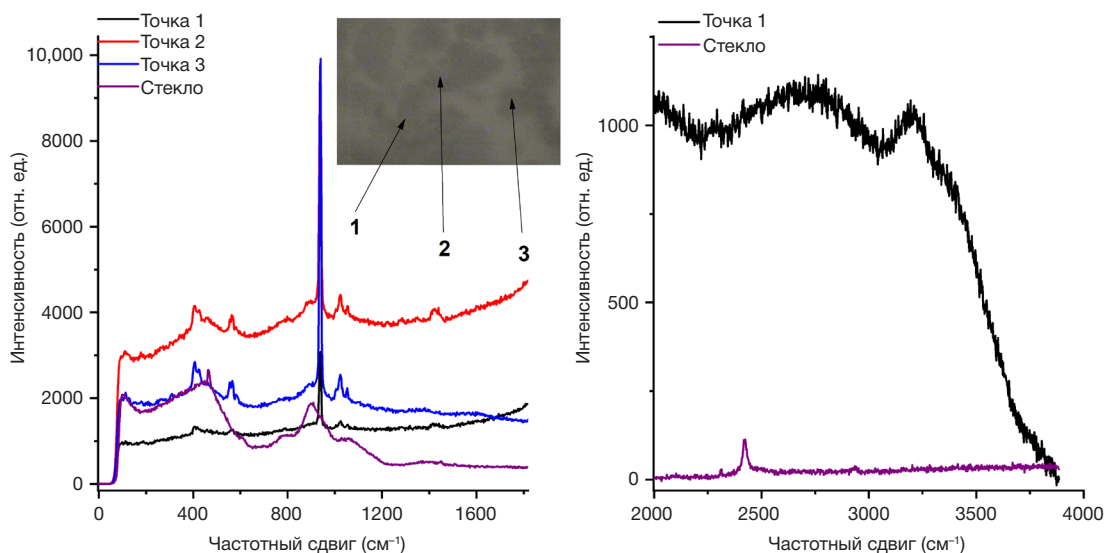


Рис. 1. Спектр КР аутооттранспланта объекта № 2 (костная ткань и компоненты ткани). На вставке — фото объекта. Контролем служит КР-спектр от стекла, на котором локализован объект. По оси абсцисс — частотный сдвиг (см^{-1}), по оси ординат — интенсивность рассеяния (относительные единицы)

коллагену, гемоглобину крови и белкам (группы амид II белков) и липидам (С–Н-групп жирных кислот липидов), а также их ОН-группам. В КР-спектре пациента у объекта № 2 выявлен ряд полос, которые свидетельствуют о наличии в пробе коллагена (1270 см^{-1}), гемоглобина ($1109, 1151, 1228, 1289, 1353, 1382, 1545, 1570, 1615 \text{ см}^{-1}$), белков (С–N-связи — $3157, 3204 \text{ см}^{-1}$) и липидов (С–Н-групп жирных кислот — $2697, 2877, 2911, 2964 \text{ см}^{-1}$; фосфатных групп — $924, 961 \text{ см}^{-1}$ фосфолипидов), а также их ОН-групп ($3402, 3588 \text{ см}^{-1}$) (рис. 2).

В КР-спектре пациента у объекта № 1 выявлены характерные полосы, которые соответствуют колебаниям отдельных молекулярных связей в белках (например, 1632 см^{-1} — амид II белков; $2848, 2876, 2918, 2930 \text{ см}^{-1}$), липидах (С–Н-группы жирных кислот липидов), а также их ОН-группах.

КР-спектры клеток аутооттрансплантатов, полученных из ретромолярной области

Для маркеров отдельных клеток в составе аутооттрансплантатов выявлен ряд характерных полос

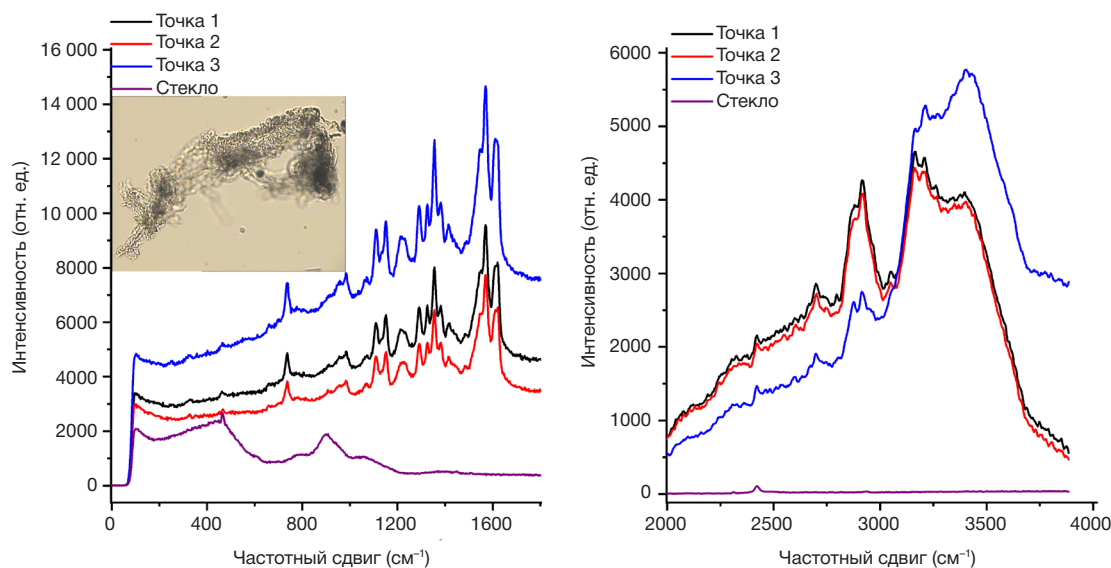


Рис. 2. КР-спектр аутооттранспланта объект № 2 (ткани аутооттрансплантатов). На вставке — фото объекта. Контролем служит КР-спектр от стекла, на котором локализован объект. По оси абсцисс — частотный сдвиг (см^{-1}), по оси ординат — интенсивность рассеяния (относительные единицы)

спектра, которые соответствуют коллагену, гемоглобину эритроцита, белкам (амид- и С–N-связи) и липидам клетки (С–Н-групп жирных кислот и фосфатным группам липидов), а также их ОН-группам. В КР-спектре пациента у объекта № 1 выявлены ряд полос, которые соответствуют белкам и липидам (С–Н-групп жирных кислот липидов — $2848, 2876, 2930 \text{ см}^{-1}$) и их ОН-группам ($3230, 3420, 3612 \text{ см}^{-1}$) (рис. 3–5), коллагену (1274 см^{-1}), гемоглобину эритроцита ($1303, 1335, 1363, 1407, 1531, 1550, 1593 \text{ см}^{-1}$), белкам и липидам (фосфатным группам — $924, 961 \text{ см}^{-1}$, С–Н-группам жирных кислот липидов ($2848, 2876, 2930 \text{ см}^{-1}$) и их ОН-группам ($3230, 3420, 3612 \text{ см}^{-1}$)) [18–20]. В КР-спектре пациента у объекта № 2 выявлены характерные полосы, которые соответствуют белкам (1621 — амид; $2841, 2887, 2950 \text{ см}^{-1}$) и липидам (фосфатным группам — $888, 1432 \text{ см}^{-1}$), а также их ОН-группам ($3212, 3402, 3626 \text{ см}^{-1}$). В КР-спектре пациента у объекта № 2 выявлены белки и липиды (С–Н-групп жирных кислот липидов — $2836, 2876, 2946 \text{ см}^{-1}$) и их ОН-группы ($3214, 3397, 3614 \text{ см}^{-1}$). В КР-спектре пациента у объекта № 3 выявлены характерные полосы, которые соответствуют коллагену (1314 см^{-1} и 1603 см^{-1}), а также белкам (С–N-связям — $2974, 3002,$

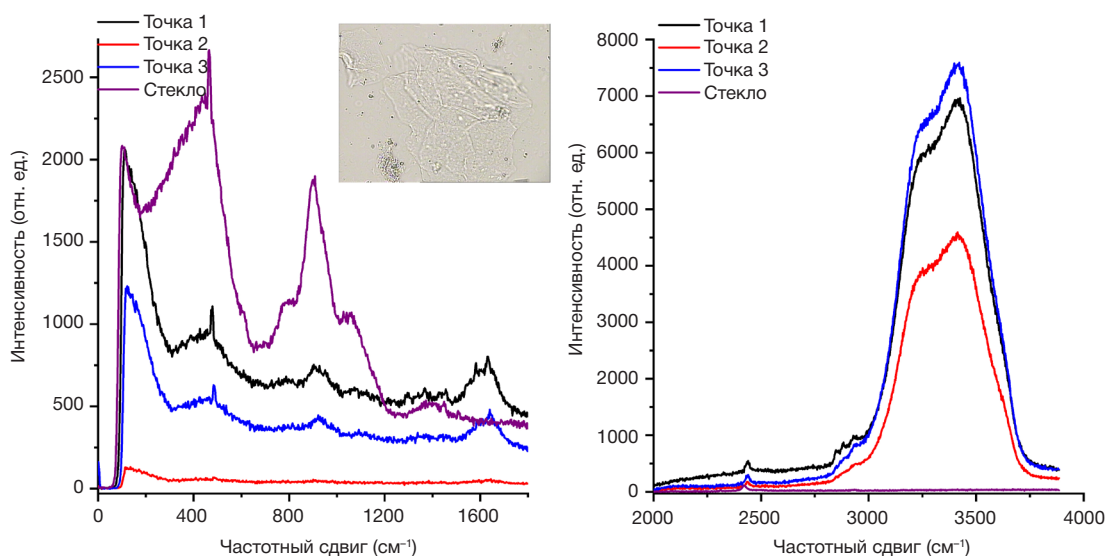


Рис. 3. КР-спектр аутотрансплантата объект № 1 (отдельная клетка). На вставке — фото объекта. Контролем служит КР-спектр от стекла, на котором локализован объект. По оси абсцисс — частотный сдвиг (см⁻¹), по оси ординат — интенсивность рассеяния (относительные единицы)

3932 см⁻¹) и липидам (С–Н-группам жирных кислот липидов — 2846, 2902, 2938 см⁻¹) и их ОН-группам (3238, 3406, 3607 см⁻¹) (см. рис. 3–5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведенной работы мы исследовали возможность регистрации КР-сигналов от молекул тканей и клеток в процессе операции получения биологической ткани для аугментации альвеолярных отростков при дефиците костной ткани (планируемая костная пластика) [15–17]. Очевидно, что постоянный контроль за состоянием ткани при хирургическом вмешательстве позволяет врачу оперативно менять протокол операции и проводить дополнительную диагностику [18–20]. В данной работе использовали оптический неинвазивный метод для быстрой и эффективной диагностики изменений состава и конформации молекул клеток и ткани нижней челюсти пациента. Мы провели предварительные исследования и получили характерные сигналы от костной и околокостной ткани и предполагаем, что использование световодов и КР-спектроскопии позволит идентифицировать на молекулярном

уровне проблемы и дефекты в ходе операции. Нами было установлено, что характерным маркером для диагностики костной ткани являются полосы, свидетельствующие о наличии фосфатных групп (426, 583, 938 см⁻¹) и карбоната В типа CO₃⁻² (1009, 1023, 1056 см⁻¹). Таким образом, при регистрации данных, маркеров можно оценить вклад данных компонентов или их изменения в ходе хирургического вмешательства. Очевидно, что при регистрации КР-сигнала от совокупности тканей и клеток может быть получен суммарный спектр. Для идентификации специфического сигнала от околокостной ткани (а не от костной ткани) были получены КР-сигналы, которые свидетельствуют о наличии коллагена, гемоглобина, различных белков (С–N-связи) и липидов (С–Н-групп жирных кислот и фосфатных групп фосфолипидов), а также их ОН-групп. Таким образом, применение нашего подхода позволит выявить изменения как в костной, так и в околокостной ткани нижней челюсти пациента [21, 22].

Важным моментом данного исследования оказалось и то, что нам удалось зарегистрировать КР-сигнал отдельных клеток аутотрансплантатов, соответствующий отдельным молекулам коллагена, гемоглобина, белкам и липидам, а также их ОН-группам).

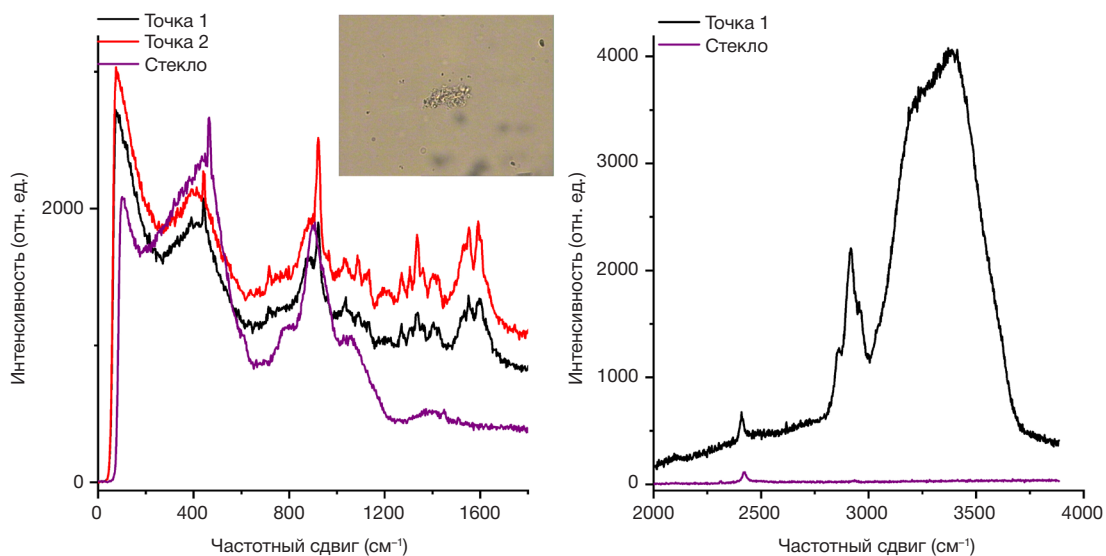


Рис. 4. КР-спектр аутотрансплантата объект № 1 (эритроцит). На вставке — фото объекта. Контролем служит КР-спектр от стекла, на котором локализован объект. По оси абсцисс — частотный сдвиг (см⁻¹), по оси ординат — интенсивность рассеяния (относительные единицы)

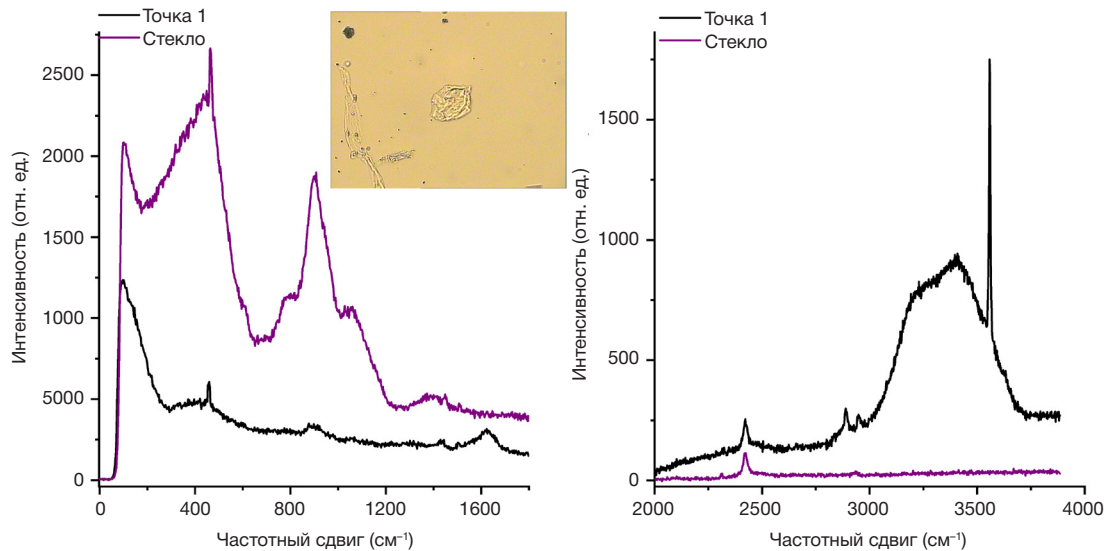


Рис. 5. КР-спектр аутоотрансплантата объект № 2 (клетка). На вставке — фото объекта. Контролем служит КР-спектр от стекла, на котором локализован объект. По оси абсцисс — частотный сдвиг (см^{-1}), по оси ординат — интенсивность рассеяния (относительные единицы)

Установлено, что КР можно использовать для оценки состояния аутоотрансплантатов костной ткани при трансплантации. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что спектры аутоотрансплантатов разных объектов отличаются друг от друга. Предложенный метод оценки состояния аутоотрансплантатов предполагается использовать в дальнейшем для идентификации конкретных белков, липидов, других молекул, входящих в структуру костных тканей, и проводить их количественную оценку. В ходе остеоинтеграции образуется большое количество биологически активных молекул, которые могут свидетельствовать об усилении или, наоборот, ослаблении интеграции [3, 6].

Итак, на различных клетках и тканях зафиксированы КР-сигналы от специфических веществ и, вероятно, используя современную технику и световоды для регистрации сигнала в области ротовой полости в ходе операции, можно локализовать воздействие именно на костную ткань и отдельные молекулы в клетках ткани аутоотрансплантата (например, гемоглобин, коллаген, белки или липиды) или стволовых клеток в трансплантате [23].

Выводы

Таким образом, в ходе проведенного исследования было показано, что использование КР-спектроскопии позволяет эффективно и быстро оценить молекулярный состав, а также качественные и количественные изменения костных аутоотрансплантатов, используемых при аугментации тканей челюсти. Своевременное выявление факторов, нарушающих остеоинтеграцию, способствующих резорбции костной ткани вокруг имплантата, — одна из основных проблем современной стоматологии. Поэтому исследования, направленные на решение этой проблемы, необходимы и актуальны. Полученные результаты позволяют предположить возможность использования с этой целью метода КР-спектроскопии. Применение технологии совмещения регистрации КР и детекции полости рта с помощью световодов может позволить врачу контролировать процесс репаративной регенерации и остеоинтеграции при дентальной имплантации. Совмещение оптической диагностики и цифрового подхода для быстрого анализа состояния ткани способно существенно повысить эффективность операции и терапии.

Литература

1. Цициашвили А. М., Панин А. М. Установка дентальных имплантатов в дистальном отделе верхней челюсти после проведения костной пластики методикой ротации костного лоскута. Научно-практический журнал «Dental Forum». 2017; (2): 40–45.
2. Кулаков А. А., редактор. Дентальная имплантация. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018; 400 с. Доступно по ссылке: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970445419.html>.
3. Neugebauer J, Kistler F, Kistler S, Scheer M, Bayer G, Zoller JE. Autologous bone augmentation. Scientific and practical journal "New in Dentistry". 2019; (241): 6–26.
4. Панкратов А. С., Лекишвили М. В., Копецкий И. С. Костная пластика в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Остеопластические материалы. М.: Бином, 2011; 271 с.
5. Hernandez-Alfaro F, Sancho-Puchades M, Guijarro-Martínez R, Total Reconstruction of the Atrophic Maxilla with Intraoral Bone Grafts and Biomaterials: A Prospective Clinical Study with Cone Beam Computed Tomography Validation. Int J Maxillofac Implants 2013; 28 (1): 241–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.11607/jomi.2405>.
6. Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants. 2015; 30 (3): 688–97. DOI: 10.11607/jomi.4117.
7. Jureti AM, Cerovi AR, BeluAiA-Gobi AM, Brekalo PrAo I, Kqiku L, Špalj S, et al. Salivary levels of TNF-A and IL-6 in patients with oral premalignant and malignant lesions. Folia Biol (Praha). 2013; 59: 99–102. Available from: <https://fb.cuni.cz/file/5685/fb2013a0012.pdf>.
8. Feng X, Shi Y, Xu L, Peng Q, Wang X, Sun W, et al. Modulation of IL-6 induced RANKL expression in arthritic synovium by a transcription factor SOX5. Sci Rep. 2016; 6: 32001. DOI: 10.1038/srep32001.
9. Tereshima A, Takayanagi H. Overview of Osteoimmunology. Calcif Tissue Int. 2018; 102 (5): 503–11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0417-1>.
10. Зорика О. А., Абаев З. М., Магомедов П. Н., Проходная В. А., Максикова Е. С. Диагностическая информативность

- определения остеомаркеров в сыворотке крови при хроническом парализованном пародонтите средней и тяжелой степени. *Стоматология*. 2019; 98 (1): 17–20.
11. Смирнов А. В., Румянцев А. Ш. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии. Сообщение I. *Нефрология*. 2014; 18 (6): 9–25.
 12. Бoleвич С. Б., Войнов В. А. Молекулярные механизмы в патологии человека. Руководство для врачей. 2012; 206 с.
 13. Vlasov AV, Maljar NL, Bazhenov SV, Nikelshparg EI, Brazhe NA, Maksimov GV, et al. Raman Scattering: From Structural Biology to Medical Applications. Crystals, MDPI publishing house (Basel, Switzerland). 2020; 10 (1): 38. Available from: <https://doi.org/10.3390/cryst10010038>.
 14. Рафальский В. В., Зюбин А. Ю., Моисеева Е. М., Самусев И. Г. Перспективы применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (рамановской спектроскопии) в кардиологии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020; 19 (1): 2394.
 15. Еремина О. Е., Семенова А. А., Сергеева Е. А., Браже Н. А., Максимов Г. В., Шеховцова Т. Н., и др. Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния в современном химическом анализе: достижения и перспективы использования. *Успехи химии*. 2018; 87 (8): 741–70.
 16. Alexandrov M. T., Margaryan E. G. Rationale for the application of surface-enhanced Raman scattering for identification of main pathogens of purulent-inflammatory diseases in maxillofacial area. 2018; 97 (1); 27–32. DOI: 10.17116/stomat201897127-32.
 17. Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions Connect. *Tissue Res*. 2017; 59: 99–107. Available from: <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1290085>.
 18. Fukumato S, Martin TJ. Bone as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20 (5): 230–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep3200>.
 19. Kylmaoja E, Nakamura M, Tuukkanen J. Osteoclasts and remodeling based bone formation. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2016; 11: 626–33. Available from: <https://doi.org/10.2174/1574888X10666151019115724>.
 20. Sohrabi K, Mushantat A, Esfandiari S, Feine J. How successful are small — diamond implants? The literature review. *Clin Oral Implants Res*. 2012; 23 (5): 515–25. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02410.x>.
 21. Yunus N, Masood M, Saub R, Al-Hashedi AA, Taiyeb Ali TB, Thomason JM. Impact of mandibular implant prostheses on the oral health-related quality of life in partially and completely edentulous patients. *Clin Oral Implants Res*. 2016; 27 (7): 904–9. Available from: <https://doi.org/10.1111/clr.12657>.
 22. Wessel JJ. Surface-enhanced optical microscopy. *JOSA B*. 1985; 2 (9): 1538–41. Available from: <https://doi.org/10.1364/JOSAB.2.001538>.
 23. Zhang J, Chen J. Bone Tissue Regeneration — Application of Mesenchymal Stem Cells and Cellular and Molecular Mechanisms. 2017; 12 (5): 357–64. DOI: 10.2174/1574888x11666160921121555.

References

1. Tsitsiashvili AM, Panin AM. Ustanovka dental'nyh implantatov v distal'nom otdele verhnjej cheljusti posle provedenija kostnoj plastiki metodiko rotacii kostnogo loskuta. *Nauchno-prakticheskij zhurnal «Dental Forum»*. 2017; (2): 40–45.
2. Kulakov AA, redactor. Dental'naja implantacija. Nacional'noe rukovodstvo. M.: GJeOTAR-Media, 2018; 400 s. Available from: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970445419.html>.
3. Neugebauer J, Kistler F, Kistler S, Scheer M, Bayer G, Zoller JE. Autologous bone augmentation. *Scientific and practical journal "New in Dentistry"*. 2019; (241): 6–26.
4. Pankratov AS, Lekishvili MV, Kopeckij IS. Kostnaja plastika v stomatologii i cheljustno-licevoj hirurgii. *Osteoplasticheskie materialy*. M.: Binom, 2011; 271 s.
5. Hernandez-Alfaro F, Sancho-Puchades M, Guijarro-Mart'inez R. Total Reconstruction of the Atrophic Maxilla with Intraoral Bone Grafts and Biomaterials: A Prospective Clinical Study with Cone Beam Computed Tomography Validation. *Int J Maxillofac Implants* 2013; 28 (1): 241–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.11607/jomi.2405>.
6. Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015; 30 (3): 688–97. DOI: 10.11607/jomi.4117.
7. Jureti AM, Cerovi AR, BeluAia-Gobi AM, Brekalo PrAo I, Kqiku L, Špalj S, et al. Salivary levels of TNF-A and IL-6 in patients with oral premalignant and malignant lesions. *Folia Biol (Praha)*. 2013; 59: 99–102. Available from: <https://fb.cuni.cz/file/5685/fb2013a0012.pdf>.
8. Feng X, Shi Y, Xu L, Peng Q, Wang X, Sun W, et al. Modulation of IL-6 induced RANKL expression in arthritic synovium by a transcription factor SOX5. *Sci Rep*. 2016; 6: 32001. DOI: 10.1038/srep32001.
9. Tereshima A, Takayanagi H. Overview of Osteoimmunology. *Calcif Tissue Int*. 2018; 102 (5): 503–11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0417-1>.
10. Zorika OA, Abaev ZM, Magomedov RN, Prohodnaya VA, Maksukova ES. Diagnostic value of serum osteomarkers in moderate and severe periodontal disease. *Stomatologiya*. 2019; 98 (1): 17–20. Available from: <https://doi.org/10.17116/stomat2019980117>.
11. Smirnov AV, Rummyantsev AS. Stroenie i funkcii kostnoj tkani v norme i pri patologii. *Soobshhenie I. Nefrologija*. 2014; 18 (6): 9–25.
12. Bolevich SB, Vojnov VA. Molekuljarnye mehanizmy v patologii cheloveka. *Rukovodstvo dlja vrachej*. 2012; 206 s.
13. Vlasov AV, Maljar NL, Bazhenov SV, Nikelshparg EI, Brazhe NA, Maksimov GV, et al. Raman Scattering: From Structural Biology to Medical Applications. Crystals, MDPI publishing house (Basel, Switzerland). 2020; 10 (1): 38. Available from: <https://doi.org/10.3390/cryst10010038>.
14. Rafalsky VV, Zyubin AYU, Moiseeva EM, Samusev IG. Perspektivy primeneniya metoda spektroskopii kombinacionnogo rassejaniya sveta (ramanovskoj spektroskopii) v kardiologii. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2020; 19 (1): 2394. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-1-2394.
15. Eremina OE, Semenova AA, Sergeeva EA, Brazhe NA, Maksimov GV, Shehovcova TN, i dr. Spektroskopija gigantskogo kombinacionnogo rassejaniya v sovremennom himicheskom analize: dostizhenija i perspektivy ispol'zovanija. *Uspehi himii*. 2018; 87 (8): 741–70.
16. Alexandrov MT, Margaryan EG. Rationale for the application of surface-enhanced Raman scattering for identification of main pathogens of purulent-inflammatory diseases in maxillofacial area. 2018; 97 (1); 27–32. DOI: 10.17116/stomat201897127-32.
17. Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions Connect. *Tissue Res*. 2017; 59: 99–107. Available from: <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1290085>.
18. Fukumato S, Martin TJ. Bone as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20 (5): 230–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep3200>.
19. Kylmaoja E, Nakamura M, Tuukkanen J. Osteoclasts and remodeling based bone formation. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2016; 11: 626–33. Available from: <https://doi.org/10.2174/1574888X10666151019115724>.
20. Sohrabi K, Mushantat A, Esfandiari S, Feine J. How successful are small — diamond implants? The literature review. *Clin Oral Implants Res*. 2012; 23 (5): 515–25. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02410.x>.
21. Yunus N, Masood M, Saub R, Al-Hashedi AA, Taiyeb Ali TB, Thomason JM. Impact of mandibular implant prostheses on the oral health-related quality of life in partially and completely edentulous patients. *Clin Oral Implants Res*. 2016; 27 (7): 904–9. Available from: <https://doi.org/10.1111/clr.12657>.
22. Wessel JJ. Surface-enhanced optical microscopy. *JOSA B*. 1985; 2 (9): 1538–41. Available from: <https://doi.org/10.1364/JOSAB.2.001538>.
23. Zhang J, Chen J. Bone Tissue Regeneration — Application of Mesenchymal Stem Cells and Cellular and Molecular Mechanisms. 2017; 12 (5): 357–64. DOI: 10.2174/1574888x11666160921121555.