

Статья

## Гистологическое сравнение коллагенизированных блоков губчатой кости (конской), используемых в качестве внутренней (inlay) или наружной (onlay) вкладки при боковой аугментации кости у кроликов

Ryuichi Sakaguchi <sup>1</sup>, Samuel Porfirio Xavier <sup>2</sup>, Kenzo Morinaga <sup>1</sup>, Daniele Botticelli <sup>1,3,\*</sup>, Erick Ricardo Silva <sup>2</sup>, Yasushi Nakajima <sup>1,2</sup> and Shunsuke Baba <sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Кафедра оральной имплантологии, Стоматологический университет Осаки, 8-1 Kuzuhahanazonocho, Hirakata 573-1121, Japan; donchan99@me.com (R.S.); morinaga-k@cc.osaka-dent.ac.jp (K.M.); y.nakajima@me.com (Y.N.); baba-s@cc.osaka-dent.ac.jp (S.B.)
  - <sup>2</sup> Кафедра челюстно-лицевой хирургии и пародонтологии, Стоматологический факультет Ribeirão Preto, Университет Сан-Паулу, Av. do Café, Subsetor Oeste, 11 (N-11), Ribeirão Preto 14040-904, SP, Brazil; spx@forp.usp.br (S.P.X.); erickricardo.rp@gmail.com (E.R.S.)
  - <sup>3</sup> ARDEC Академия, 47923 Rimini, Italy
- \* Корреспонденция: daniele.botticelli@gmail.com

**Аннотация.** *Актуальность:* строение участка размещения внутренней вкладки обуславливает усиленный контакт с исходной костью по сравнению с наружной вкладкой. Это может способствовать росту кости во внутренней вкладке по сравнению с наружной вкладкой. Целью данного исследования было сравнение процессов интеграции в костную ткань и ремоделирования ксеногенных костных блоков, установленных с использованием двух методов костной трансплантации: наружной (onlay) или внутренней (inlay) вкладки. *Методы:* в этом проспективном рандомизированном исследовании с разделением полости рта (исследуемая и контрольная стороны у одного и того же животного) сравнивали два метода костной трансплантации. Латеральный отдел нижней челюсти кроликов использовали в качестве участка трансплантации с двух сторон. На одной стороне нижней челюсти для перфорации кортикальный кости использовали сверла, что способствовало образованию костной ткани из костной раны и костномозговых полостей. Ксеногенный костный блок фиксировали в центре подготовленного участка, представляющего собой участок размещения наружной вкладки. На другой стороне нижней челюсти формировали объемный круговой дефект шириной 7 мм и глубиной 3 мм с использованием трепанов и сверл. В центре дефекта фиксировали ксеногенный костный блок, представляющий собой участок размещения внутренней вкладки. В исследовании были предусмотрены два периода заживления: 2 и 10 недель, по 10 животных для каждого периода ( $n = 10$  для каждого периода). *Результаты:* после заживления в течение 2 недель среднее процентное содержание новообразованной костной ткани составило 10,4 % и 23,3 % при применении наружной и внутренней вкладки соответственно ( $p = 0,022$ ). После заживления в течение 10 недель объем новообразованной костной ткани увеличился до 13,2 % на участках размещения наружных вкладок и до 25,4 % на участках размещения внутренних вкладок ( $p = 0,080$ ). При заживлении в течение 10 недель для внутренних вкладок наблюдался однородный рост новообразованной костной ткани во всех областях; при использовании наружных вкладок процентное содержание новообразованной костной ткани во внешних областях было низким. *Заключение:* процентное содержание новообразованной костной ткани увеличивалось быстрее и было выше при применении

внутренних вкладок по сравнению с наружными вкладками. Этот результат может быть обусловлен строением участка размещения внутренней вкладки, которое обеспечивает больше источников для образования новой кости по сравнению со строением участка размещения наружной вкладки. Остеокондуктивные свойства биоматериала позволяли новообразованной костной ткани достигать периферических областей в обеих группах. Остеокондуктивные свойства биоматериала в совокупности с защитным действием коллагеновой мембраны обеспечили возможность закрытия краевых дефектов новообразованной костной тканью в группе применения внутренних вкладок.

**Ключевые слова:** исследование на животных; заживление кости; гистологическое исследование; боковая аугментация; костная трансплантация; биоматериал; дефект кости

## 1. Введение

Чтобы снизить потерю объема альвеолярной кости после удаления зуба [1,2], наиболее выраженную при повреждении альвеолярного гребня со щечной стороны, можно использовать биоматериалы для заполнения лунки [3]. В случае удаления нескольких зубов, обширного пародонтита или травмы может потребоваться восстановление утраченного объема кости. Когда дефекты достигают критического размера, что препятствует полному самостоятельному заживлению [4,5], реконструкция становится сложной задачей для хирургов [6]. Трансплантация костных блоков — это хирургический метод, широко применяемый при реконструкции дефектов нижней челюсти, обусловленных травматическими повреждениями, резорбцией, удалением зубов и врожденными дефектами [7]. Цель этой процедуры — восстановление утраченного объема костной ткани. Она часто применяется в стоматологической имплантологии в качестве метода установки костных имплантатов [8–10]. Некоторые типы трансплантатов рекомендованы для реконструкции при атрофии альвеолярного гребня. Чаще всего применяются аутогенные, ксеногенные и аллогенные трансплантаты [11–14].

Аутогенные трансплантаты считаются «золотым стандартом» благодаря их остеогенным и остеокондуктивным свойствам, которые стимулируют процесс интеграции в костную ткань [15–19]. Однако им присущи и недостатки, такие как осложнения при хирургическом вмешательстве и более длительное время операции [20–24]. Процедуры аутогенной трансплантации могут быть довольно сложными, и их успех зависит от размера дефекта кости и доступности участка трансплантации. Это привело к разработке новых биоматериалов, обеспечивающих восстановление утраченного объема костной ткани с благоприятными количественными и качественными показателями [25–27]. Согласно результатам исследований, блочные аутогенные костные трансплантаты могут быть более устойчивыми к потере объема костной ткани в долгосрочной перспективе, чем измельченный костный материал [28]. Однако в других исследованиях было установлено, что блочные трансплантаты подвержены резорбции в период восстановления [29]. В результате были разработаны новые материалы и методы для снижения скорости резорбции трансплантата и поддержания объема костной ткани [28,30].

Ксеногенные трансплантаты применяют для аугментации костной ткани в качестве эффективной альтернативы замене аутогенной кости [31–36]. Это обусловлено их клиническими преимуществами, такими как снижение частоты осложнений при хирургическом вмешательстве, простота применения и возможность адаптации костного блока к

анатомическому строению принимающего ложа [31,37–39]. Для установки трансплантата в принимающее ложе можно использовать ряд хирургических методов, таких как костные блоки-накладки, остеодистракция и трансплантаты из измельченного костного материала, применяемые совместно с титановыми сетками или коллагеновыми мембранами [39]. В клиническом исследовании [40] у 30 пациентов для восстановления утраченного объема верхнечелюстной кости применяли аутогенные костные блоки-накладки, полученные из гребня подвздошной кости. В период интеграции в костную ткань наблюдалась выраженная реабсорбция всего объема трансплантата.

В экспериментальных исследованиях [41] оценивали влияние перфорации принимающего ложа на процедуры трансплантации с использованием костных блоков-накладок, полученных из гребня подвздошной кости кроликов. Блоки, установленные в перфорированные принимающие ложа, продемонстрировали менее выраженную реабсорбцию в период восстановления за счет более интенсивной перфузии крови из костного матрикса в трансплантат, что способствовало увеличению количества белков, связанных с ревазуляризацией и остеогенезом.

В связи со сложностью разработки техники трансплантации, способной обеспечить надлежащую интеграцию в костную ткань, менее выраженную резорбцию в период восстановления и поддержание объема костной ткани в долгосрочной перспективе, целью данного исследования была сравнительная оценка процессов интеграции, резорбции и ремоделирования ксеногенных костных блоков с использованием двух хирургических методик: наружной или внутренней вкладки. Строение участка размещения внутренней вкладки обуславливает усиленный контакт с исходной костью по сравнению с наружной вкладкой. Это может способствовать интеграции трансплантата и формированию костной ткани во внутренней вкладке по сравнению с наружной вкладкой. Целью данного исследования было сравнение процессов интеграции в костную ткань и ремоделирования ксеногенных костных блоков, установленных с использованием двух методов костной трансплантации: наружной или внутренней вкладки.

## **2. Материалы и методы**

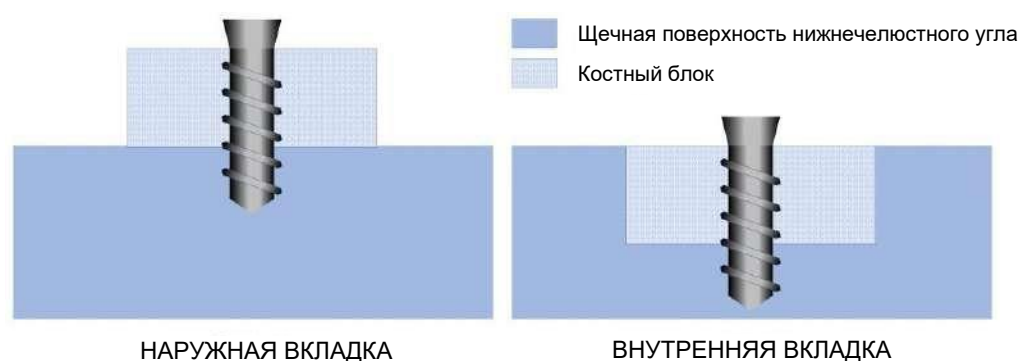
### *2.1. Этические соображения*

Данное исследование было одобрено Комитетом по этике в области использования лабораторных животных факультета стоматологии Рибейран-Прету, Университет Сан-Паулу, Бразилия, 25 сентября 2019 г., протокол № 2019.1.619.58.2. Предлагаемые экспериментальные процедуры проводили в соответствии с законодательством Бразилии в отношении исследований на животных. В данном исследовании использовали контрольный перечень ARRIVE.

### *2.2. Дизайн исследования*

В этом проспективном рандомизированном исследовании с разделением полости рта (исследуемая и контрольная стороны у одного и того же животного) сравнивали два метода костной трансплантации в латеральном отделе нижней челюсти кроликов (рисунок 1). На одной стороне при подготовке применяли перфорацию (участок размещения наружной вкладки), а на другой стороне при подготовке использовали трепаны и сверла, чтобы сформировать стандартизированное принимающее ложе (участок размещения внутренней вкладки). Ксеногенный костный блок фиксировали в центре с помощью титанового винта с

обеих сторон нижней челюсти и покрывали коллагеновой мембраной. В исследовании были предусмотрены два периода заживления: 2 и 10 недель.



**Рисунок 1.** Схема двух процедур. Для получения дополнительной информации см. дополнительный рисунок S1, на котором представлено гистологическое изображение экспериментальной области нижней челюсти кролика.

### 2.3. Экспериментальные животные и размер выборки

Для расчета размера выборки использовали данные исследования, в котором аналогичные трансплантаты фиксировали на костной пластинке в латеральном отделе нижней челюсти кроликов [42]. В этом исследовании трансплантаты либо обрабатывали аргоновой плазмы, либо оставляли необработанными. Максимальное стандартное отклонение составило 7,4 %. В настоящем исследовании различие между наружной и внутренней вкладкой, составляющее 10 %, считалась клинически значимым. Следовательно, при  $\alpha = 0,05$  и статистической мощности 0,9 был получен размер выборки, составляющий 8 пар животных, чтобы отклонить нулевую гипотезу, согласно которой различие в ответе равно нулю (William D. Dupont, Walton D. Plummer. PS Power and Sample Size Calculations). Размер выборки увеличили до 10 пар животных с учетом возможных осложнений на разных уровнях в ходе эксперимента. Таким образом, в исследование были включены 20 взрослых самцов новозеландских белых кроликов, по 10 на каждый период заживления, (масса тела: 3,5–4,0 кг; возраст: 5–6 месяцев).

### 2.4. Рандомизация и сокрытие порядка распределения по группам

Рандомизацию проводили в электронном виде; ее выполнял автор, который не участвовал в отборе животных или хирургических процедурах (S.P.X.). Данные о распределении по группам хранили в запечатанном непрозрачном конверте, который вскрыли непосредственно перед фиксацией первого трансплантата. Специалист, выполнявший гистологическое исследование, не был осведомлен о времени заживления и порядке распределения по группам, а гистологическим препаратам были присвоены коды. Однако строение участков трансплантации можно определить по гистологическим препаратам.

### 2.5. Биоматериалы

Sr-Block — это твердый высушенный блок, состоящий из коллагенсодержащей губчатой костной ткани конского происхождения (Tecposс®, Джавено, Италия). Его производят с

использованием уникального процесса, который позволяет избежать керамизации кристаллов гидроксиапатита и сократить сроки физиологической резорбции.

Bio-Guide (Geistlich Biomaterials, Вольхузен, Люцерн, Швейцария) — это рассасывающаяся мембрана свиного происхождения, состоящая из коллагена I и III типов. Она обладает двухслойной структурой с гладким внешним слоем, предотвращающим разрастание мягких тканей в область, подлежащую восстановлению, и пористым внутренним слоем, способствующим росту костных клеток и сосудов [43].

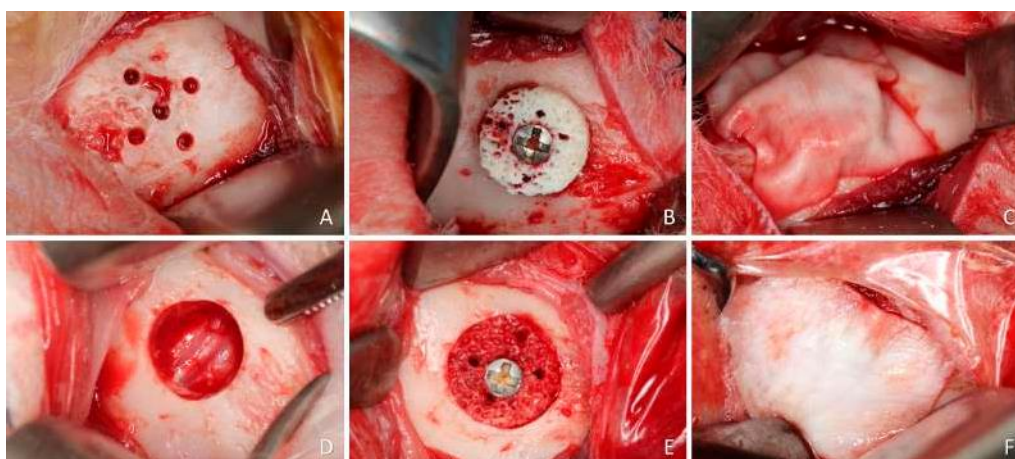
#### 2.6. Анестезия

Хирургические процедуры проводили под общей анестезией с применением ацепромазина (1,0 мг/кг; Ацепран; Vetnil, Ловейра, Сан-Паулу, Бразилия) и ксилазина (3,0 мг/кг; Laboratórios Calier S/A, Барселона, Испания) для внутримышечного введения в сочетании с кетаминном для внутримышечного введения (50,0 мг/кг; União Química Farmacêutica Nacional S/A, Эмбу-Гуасу, Сан-Паулу, Бразилия) через 15 минут после введения ацепромазина. После надлежащей седации животные получали профилактическую антибиотикотерапию окситетрациклином (0,2 мл/кг; Biovet, Варжен-Гранди-Паулиста, Сан-Паулу, Бразилия). В области вмешательства сбривали шерсть и выполняли антисептическую обработку путем местного применения 1 % раствора поливинилпирролидона йода (Riodeine Tintura; Rioquímica, Сан-Жозе-ду-Риу-Прету, Сан-Паулу, Бразилия). Местную анестезию выполняли с использованием 2 % раствора мепивакаина и норадреналина в соотношении 1 : 100 000 (Мепинор; Nova DFL, Рио-де-Жанейро, Бразилия).

#### 2.7. Хирургическое вмешательство

Все операции выполнял один специалист (V.F.B.; см. раздел «Благодарности»), обладавший надлежащим опытом и квалификацией.

Выполняли линейный разрез длиной 2,5–3 см с двух сторон на коже в нижней части нижней челюсти. Поднимали мышцы и надкостницу. После поднятия лоскута получали доступ к выпуклой кости щечной поверхности нижнечелюстного угла. На одном участке использовали сверло в форме усеченного конуса диаметром 1,0 мм под прямой наконечник для формирования пяти отверстий для монокортикальной фиксации, расположенных на равном расстоянии друг от друга, по всему диаметру трансплантата, с помощью шаблона из нержавеющей стали. Эти отверстия достигали медуллярной части принимающего ложа, что способствовало кровоснабжению и поступлению в трансплантат клеток из оболочки костного мозга (рисунок 2А). Ксеногенный костный блок диаметром 7 мм и высотой 3 мм фиксировали (наружная вкладка; рисунок 2В) с помощью титанового винта 1,5 × 10 мм (Neodent, Куритиба, Бразилия).



**Рисунок 2 (А–С).** Клинические фотографии процедуры размещения наружной вкладки. (А) Перфорация кортикального слоя. (В) Фиксация трансплантата с помощью винта. Обратите внимание на перфорацию костного блока. (С) Коллагеновая мембрана, покрывающая костный блок. (D–F) Клинические фотографии процедуры размещения внутренней вкладки. (D) Формирование стандартизированного дефекта шириной 7 мм и глубиной 3 мм. (E) Костный блок, установленный в область дефекта и зафиксированный винтом. Обратите внимание на перфорацию костного блока. (F) Коллагеновая мембрана, покрывающая костный блок.

На другой стороне нижней челюсти формировали дефект кости шириной 7 мм и глубиной 3 мм с использованием трепана, с последующей обработкой алмазным сверлом (рисунок 2D). Ксеногенный костный блок размещали внутри дефекта, адаптировали к уровню прилегающего края кости и фиксировали титановым винтом (рисунок 2E). Для покрытия обоих блоков использовали коллагеновые мембраны (BioGuide®; Geistlich, Вольхузен, Швейцария) (рисунок 2C, F). Для ушивания раны с помощью простых швов использовали викрил 4-0 для мышц и нейлон 4-0 для кожи.

### 2.8. Содержание животных

Всем животным вводили кетопрофен (3,0 мг/кг, 12/12 ч, в/м, Кетофен 10 %; Merial, Кампинас, Сан-Паулу, Бразилия) и 2 % раствор трамадола гидрохлорида (1,0 мг/кг, 12/12 ч, подкожно; Кронидор; Agener União Saúde Animal, Апукарана, Парана, Бразилия) в послеоперационный период и в последующие 3 дня.

Животных размещали в виварии факультета стоматологии Рибейран-Прету, Университет Сан-Паулу. Животных содержали в отдельных металлических клетках (1 животное/4500 см<sup>2</sup>) в акклиматизированном помещении со сплит-системой кондиционирования воздуха, вытяжным вентилятором (кратность воздухообмена 27–34 в час) и автоматическим контролем освещения (12-часовой цикл чередования света и темноты). Все животные получали специальный корм и имели неограниченный доступ к воде.

В течение всего периода исследования применяли строгий протокол наблюдения за животными, с ежедневной оценкой основных биологических функций, потребления корма и экскреции и поведенческих признаков, связанных с послеоперационной болью, а также мониторингом послеоперационных инфекций и хирургических ран для оценки состояния швов, кровотечений и (или) признаков инфекции.

### 2.9. Умерщвление животных

Животных умерщвляли путем внутривенного введения тиопентала 1,0 г в дозе 2,0 мл (Тиопентакс; Cristália, Итапира, Сан-Паулу, Бразилия) через 2 или 10 недель, по 10 животных в каждой группе. Области вмешательства препарировали, измельчали до отдельных блоков и выдерживали в 10 % параформальдегиде для фиксации.

### 2.10. Гистологическое исследование

Образцы доставили в лабораторию срезов твердых тканей FORP-USP для гистологического исследования. Образцы промывали проточной водой для полного удаления фиксирующего вещества и обезвоживали путем обработки этиловым спиртом с постепенным увеличением концентрации, с заменой каждые три дня при постоянном перемешивании (60 %, 80 %, 96 % и абсолютный спирт дважды). Затем образцы погружали в смолу (LR White™ HardGrid; London Resin Co Ltd., Беркшир, Великобритания) для пропитки и последующей полимеризации в термостате при температуре 60 °C.

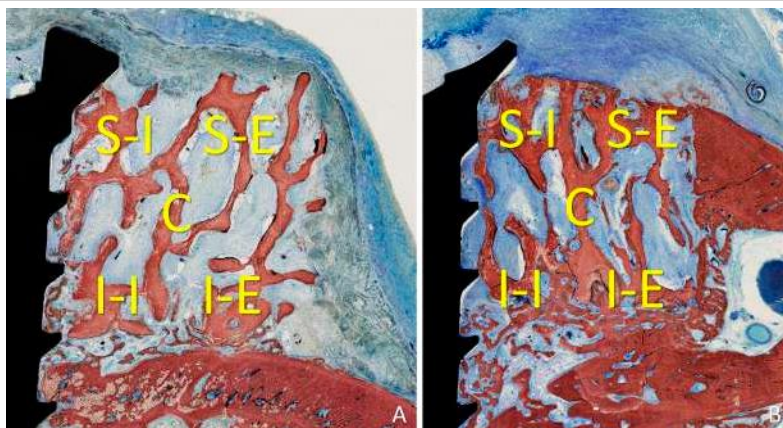
После завершения полимеризации каждый блок разрезали в поперечной плоскости по центру, ориентируясь на фиксирующий винт, установленный в центре трансплантата во время операции.

Получали два среза толщиной приблизительно 100–150 мкм с использованием прецизионного оборудования для резки/измельчения (Exakt; Apparatebau, Нордерштедт, Германия) и измельчали до толщины приблизительно 60–80 мкм. Гистологические срезы окрашивали либо толудиновым синим, либо синим красителем Stevenel's Blue и ализариновым красным.

### 2.11. Гистоморфометрическая оценка

Для гистологической и гистоморфометрической оценки специалист по оценке (К.А.А., см. раздел «Благодарности»), который не участвовал в других этапах исследования, сверял полученные результаты с другим специалистом (D.B.) до достижения межэкспертной согласованности (коэффициента Коэна)  $k > 0,90$ .

Оценивали пять областей на участке трансплантации латеральнее фиксирующего винта: нижняя/внутренняя (I-I), нижняя/внешняя (I-E), верхняя/внутренняя (S-I), верхняя/внешняя (S-E) и центральная (C). Оценивали следующие ткани: новообразованная костная ткань, ксенотрансплантат, мягкие ткани (костномозговые полости, временный матрикс, плотные и рыхлые ткани и соединительная ткань), сосуды, воспалительный инфильтрат и остеокластические зоны (рисунок 3 А, В). Сетку, состоящую из 16 × 12 квадратов с размерами 75 мкм (1200 × 900 мкм; 1,08 мм<sup>2</sup>), накладывали на микрофотографии каждой области с использованием программного обеспечения NIS-Elements (версия 5.11.01, Nikon, Токио, Япония).



**Рисунок 3.** Оценивали пять областей на участке трансплантации латеральное фиксирующего винта: нижняя/внутренняя (I-I), нижняя/внешняя (I-E), верхняя/внутренняя (S-I), верхняя/внешняя (S-E) и центральная (C). (A) Наружная вкладка; (B) внутренняя вкладка.

### 2.12. Результаты экспериментов и статистические методы

Полученные значения представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Основной переменной была минерализованная новообразованная костная ткань. Дополнительными переменными были другие ткани, оцениваемые в ходе морфометрического анализа. Для оценки нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро — Уилка. Согласно полученным результатам, различия между испытуемыми и контрольными участками оценивали с помощью парного критерия Стьюдента или критерия знаковых рангов Уилкоксона. Для статистического анализа использовали программное обеспечение GraphPad Prism (версия 10.0.2 для Windows, GraphPad Software, Бостон, Массачусетс, США). Уровень значимости составлял 5 %.

## 3. Результаты

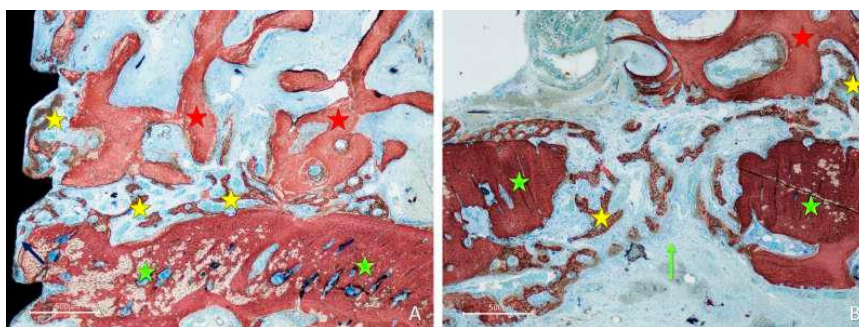
### 3.1. Клинические исходы

Заживление прошло без осложнений. Все гистологические препараты были доступны для анализа,  $n = 10$  для обоих периодов.

### 3.2. Описательная гистологическая оценка

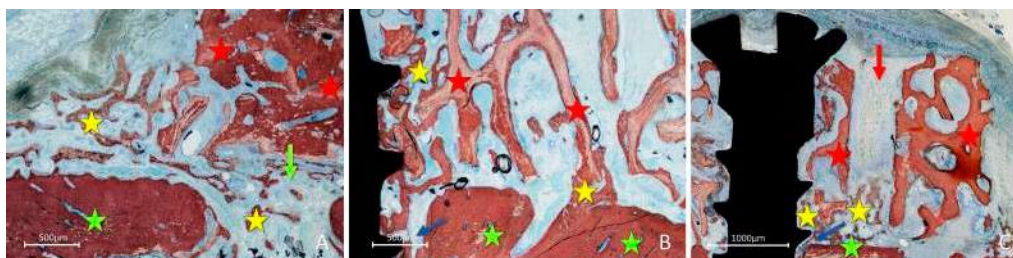
После заживления в течение 2 недель в группе применения наружной вкладки наблюдалась новообразованная костная ткань, сформированная из кортикального слоя латерального отдела нижней челюсти, расположенная между трансплантатом и исходной костью, проникающая в полости трансплантата и покрывающая трабекулы (рисунок 4A). Наблюдался активный остеогенез за счет перфорации кортикальной кости, что способствовало росту кости (рисунок 4B).





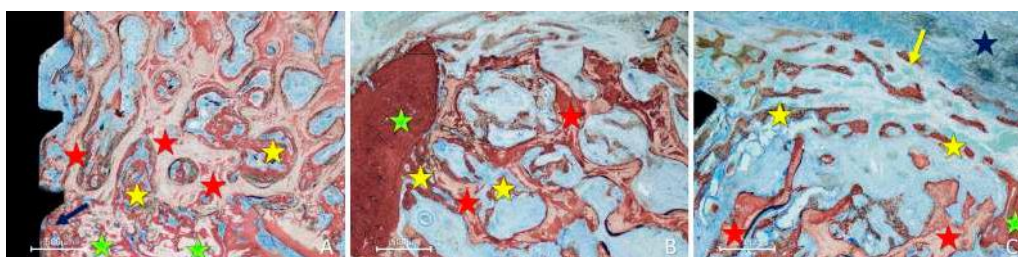
**Рисунок 4.** Микрофотографии измельченных срезов, демонстрирующие заживление на участках размещения наружной вкладки через 2 недели. (А) Новая костная ткань, сформировавшаяся на участке трансплантации и за счет перфорации фиксирующего винта. (В) Активный остеогенез за счет перфорации кортикальной кости. Условные обозначения для образцов тканей: желтые звездочки — новообразованная костная ткань; красные звездочки — трансплантат; зеленые звездочки — участок трансплантации; зеленая стрелка — перфорация участка трансплантации; синяя стрелка — перфорация фиксирующего винта. В качестве красителей использовали синий краситель Stevenel's blue и ализариновый красный.

Также наблюдалось образование новой костной ткани латеральнее трансплантата, с разрастанием на внешнюю поверхность трансплантата (рисунок 5А). Образование новой костной ткани также наблюдалось за счет перфорации фиксирующего винта (рисунок 5В) и внутри отверстий, сформированных в трансплантатах (рисунок 5С).



**Рисунок 5.** Микрофотографии измельченных срезов, демонстрирующие заживление на участках трансплантации через 2 недели. Новая костная ткань сформирована: (А) латеральнее трансплантата и за счет перфорации кортикального слоя; (В) за счет перфорации фиксирующего винта; (С) внутри отверстий, сформированных в трансплантате. Условные обозначения для образцов тканей: желтые звездочки — новообразованная костная ткань; красные звездочки — трансплантат; зеленые звездочки — участок трансплантации; зеленая стрелка — перфорация участка трансплантации; синие стрелки — перфорация фиксирующего винта; красная стрелка — перфорация трансплантата. В качестве красителей использовали синий краситель Stevenel's blue и ализариновый красный.

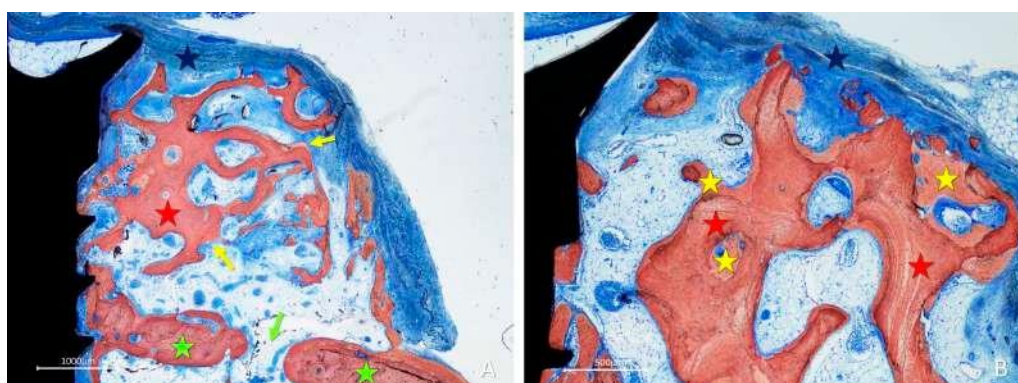
В группе применения внутренней вкладки после 2 недель заживления положение внутри изолированного дефекта допускало наличие нескольких источников для образования новой костной ткани. Образование костной ткани наблюдалось в кортикальном слое нижней челюсти, за счет перфорации фиксирующего винта (рисунок 6А) и в латеральных отделах костных стенок дефекта (рисунок 6В). В периферических областях дефекта новообразованная костная ткань, сформированная из кортикального слоя, разрасталась на поверхности трансплантата и под коллагеновой мембраной (рисунок 6В, С), закрывая вход в дефект.



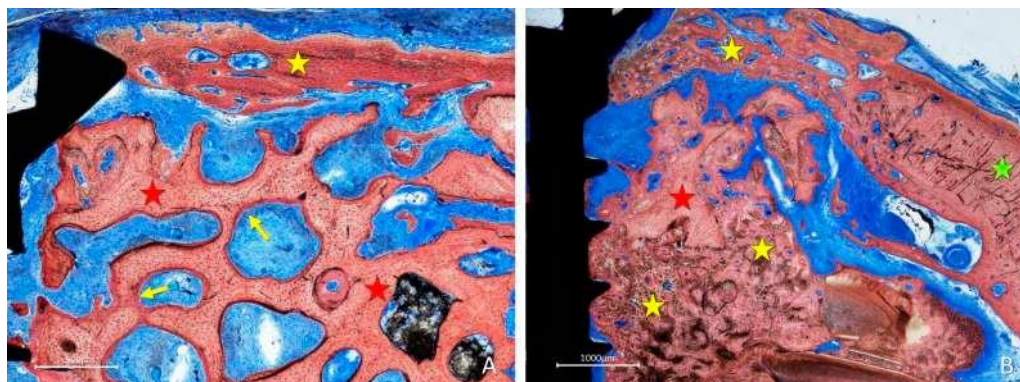
**Рисунок 6.** Микрофотографии измельченных срезов, демонстрирующие заживление на участках размещения внутренней вкладки через 2 недели. Наблюдалось образование костной ткани: (A) из кортикального слоя нижней челюсти и за счет перфорации фиксирующего винта; (B) из боковых стенок дефекта; (C) из боковых стенок дефекта, с разрастанием на поверхности трансплантата и под коллагеновой мембраной. Условные обозначения для образцов тканей: желтые звездочки — новообразованная костная ткань; красные звездочки — трансплантат; зеленые звездочки ((A) — основание и (B,C) — боковая стенка дефекта); синяя звездочка — остатки коллагеновой мембраны (C); синяя стрелка — перфорация фиксирующего винта; желтая стрелка — новообразованная костная ткань в верхней части дефекта. В качестве красителей использовали синий краситель Stevenel's blue и ализариновый красный.

После заживления в течение 10 недель в группе применения наружной вкладки наблюдалась новообразованная костная ткань, покрывающая поверхность трабекул (рисунок 7A, B); полости, в том числе между трабекулами, были заполнены костным мозгом и временным матриксом.

В группе применения внутренней вкладки в большинстве случаев костная ткань покрывала трабекулы трансплантата, а полости между трабекулами были заполнены плотным временным матриксом или костным мозгом (рисунок 8A). В некоторых случаях плотная костная ткань занимала большую часть трансплантата (рисунок 8B); в нескольких случаях трансплантат был покрыт новообразованной костной тканью, которая закрывала вход в дефект (рисунок 8A, B).



**Рисунок 7.** Микрофотографии измельченных срезов, демонстрирующие заживление на участках трансплантации через 10 недель. (A) Полости, в том числе между трабекулами, были заполнены костным мозгом и временным матриксом. (B) Обратите внимание на новообразованную костную ткань, покрывающую трабекулы. Условные обозначения для образцов тканей: желтые звездочки — новообразованная костная ткань; красные звездочки — трансплантат; зеленые звездочки — участок трансплантации; синие звездочки — мембрана; желтые стрелки — новообразованная костная ткань, покрывающая трабекулы трансплантата; зеленая стрелка — перфорация фиксирующего винта. В качестве красителей использовали синий краситель Stevenel's blue и ализариновый красный.

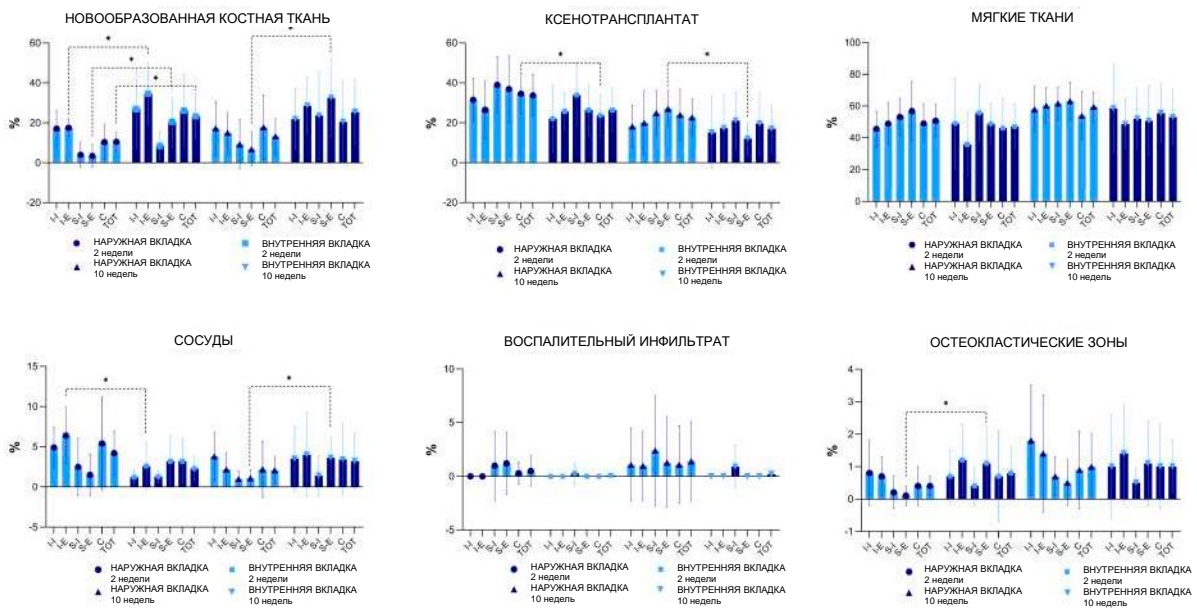


**Рисунок 8.** Микрофотографии измельченных срезов, демонстрирующие заживление на участках размещения внутренней вкладки через 10 недель. (А) В некоторых случаях плотный временный матрикс занимал большие участки в трабекулах трансплантата, покрытых новообразованной костной тканью. (В) В других случаях в область трансплантата входила плотная костная ткань в трабекулах трансплантата. (А,В) В нескольких случаях трансплантат был покрыт новообразованной костной тканью. Условные обозначения для образцов тканей: желтые звездочки — новообразованная костная ткань; красные звездочки — трансплантат; зеленая звездочка — боковая стенка участка трансплантации; желтые стрелки — новообразованная костная ткань, покрывающая трабекулы трансплантата. В качестве красителей использовали синий краситель Stevenel's blue и ализариновый красный.

### 3.3. Гистоморфометрическая оценка

После заживления в течение 2 недель в группе применения внутренней ткани количество новообразованной костной ткани было больше, чем группе применения наружной вкладки (рисунок 9). Различия были статистически значимыми для среднего общего количества и областей I-E и S-E. Областями с наименьшим количеством новообразованной костной ткани были области S-I и S-E в группе применения наружной вкладки и область S-I в группе применения внутренней вкладки, т.е. областях, наиболее удаленных от стенок кости. Процентное содержание ксенотрансплантата было ниже в группе применения внутренней вкладки, чем в группе применения наружной вкладки; различие было статистически значимым только для области С.

Процентное содержание мягких тканей было сходным в обеих группах; процентное содержание сосудов было несколько выше в группе применения наружной вкладки по сравнению с группой применения внутренней вкладки во всех областях. Различие было статистически значимым только для области I-E. Также наблюдалось небольшое количество воспалительных инфильтратов и остеокластических зон.



**Рисунок 9.** Процентное содержание тканей в различных областях после заживления в течение 2 и 10 недель.  
\*,  $p < 0,05$ . (Графики, полученные с помощью GraphPad Prism).

После заживления в течение 10 недель среднее общее количество новообразованной костной ткани в обеих группах несколько увеличилось по сравнению с предыдущим периодом оценки (рисунок 9). В нижних областях, ближе к стенкам кости, наблюдалась тенденция к уменьшению доли новообразованной костной ткани, в то время как в периферических (верхних) областях доля новообразованной костной ткани значительно увеличилась для обоих трансплантатов. Различие было статистически значимым только для области S-E. Процентное содержание ксенотрансплантата уменьшилось между двумя периодами оценки, в то время как количество сосудов уменьшилось в группе применения наружной вкладки, но увеличилось в группе применения внутренней вкладки. Процентное содержание воспалительного инфильтрата увеличилось только в группе применения внутренней вкладки, в то время как остеокластическая активность незначительно увеличилась в обеих группах.

#### 4. Обсуждение

Результаты данного исследования свидетельствуют, что среднее общее процентное содержание новообразованной костной ткани было приблизительно в два раза выше в группе применения внутренней вкладки по сравнению с группой применения наружной вкладки для обоих периодов заживления. Однако различие было статистически значимым только после заживления в течение 2 недель ( $p = 0,022$ ), но не 10 недель ( $p = 0,080$ ). Это отсутствие статистической значимости может быть связано с высокой вариабельностью, наблюдаемой у животных (рисунок 9). Однако при объединении данных для верхних областей (S-I + S-E) наблюдались статистически значимые различия ( $p = 0,027$ ). В различных областях, оцениваемых для обоих трансплантатов, процентное содержание новообразованной костной ткани всегда было выше в группе применения внутренней вкладки по сравнению с группой применения наружной вкладки. Это различие связано с размещением вкладки внутри изолированного дефекта, допускающим наличие нескольких участков образования новой костной ткани. Ширина дефекта составляла 7 мм, и его размеры статистически значимо влияли на заживление.

В исследовании на кроликах в нижней челюсти формировали дефекты кости на всю толщину диаметром 11 мм [4]. Дефекты заполняли аутогенной костной тканью или гранулами двухфазного фосфата кальция, либо оставляли незаполненными. Оценка, выполненная через 4 и 12 недель, выявила неполное заживление всех незаполненных дефектов. Напротив, как аутогенная костная ткань, так и гранулы двухфазного фосфата кальция продемонстрировали лучшие результаты; при этом процентное содержание новообразованной костной ткани было выше в первой группе, чем во второй. Следует подчеркнуть, что в этом исследовании применяли сквозные дефекты, при которых новая костная ткань могла формироваться только по краям дефекта. Дефекты, применяемые в настоящем исследовании, были немного меньше и не затрагивали всю толщину нижнечелюстной кости; таким образом, основание кости также способствовало формированию костной ткани. Это означает, что условия для заживления в данной модели были более благоприятными, чем в исследовании, указанном выше, что обеспечивало большее количество костных стенок, из которых формируется костная ткань. Это также ускорило формирование новой костной ткани во внутренней вкладке, по сравнению с наружной вкладкой. При применении наружной вкладки костная ткань может формироваться только из основания дефекта, тогда как при применении внутренней вкладки костная ткань может формироваться из основания и боковых стенок дефекта.

На результаты также могла повлиять тенденция к самостоятельному заживлению кольцевых дефектов при применении имплантатов [44] и без него [45]. В эксперименте с формированием дефектов альвеолярного гребня у собак было установлено, что кольцевые краевые дефекты вокруг имплантата шириной 7,3 мм заживают без заполнения [46]. Тем не менее остеокондуктивные свойства используемого биоматериала служат ключевым фактором для надлежащего заживления.

В исследовании на собаках костный блок, состоящий из депротенинизированного бычьего костного минерала (DBBM), и аутогенный костный блок фиксировали в латеральном отделе нижней челюсти [47]. После заживления в течение 6 месяцев аутогенный блок была отмечена интеграция аутогенного костного блока в латеральный отдел нижней челюсти, в то время как блок DBBM обеспечил формирование небольшого количества новообразованной костной ткани в основании трансплантата, близко к участку трансплантации. В другом исследовании [48,49] были сформированы стандартизированные дефекты в латеральном отделе нижней челюсти у собак. Через 3 месяца устанавливали блоки DBBM или аутогенные костные блоки, которые закрепляли фиксирующими винтами в пределах дефектов кости. Через 3 месяца на всех участках устанавливали один имплантат в области контакта между трансплантатом и принимающим ложем. Результаты, полученные через 3 месяца, свидетельствовали об интеграции всех имплантатов. Тем не менее в щечной проекции имплантата, то есть в области контакта с трансплантатом, интеграция наблюдалась только в группе применения аутогенного костного блока, тогда как для блока DBBM интеграция практически отсутствовала [48]. Кроме того, оценивали интеграцию трансплантата [49]. Аутогенный костный блок был хорошо интегрирован в исходную кость, в то время как блок DBBM был преимущественно отделен от исходной кости слоем соединительной ткани. Лишь в нескольких случаях костная ткань наблюдалась внутри трансплантата в базальных областях.

В настоящем исследовании использовали коллагенсодержащую губчатую костную ткань лошади. Новообразованная костная ткань внутри трансплантата, покрывающая трабекулы в базальной области трансплантата, была обнаружена после заживления в течение 2 недель. Через 10 недель новообразованная костная ткань сформировалась во всем теле трансплантата. Этот результат согласуется с наблюдавшимся в другом исследовании, в котором аналогичные

блоки костной ткани лошади, либо обработанные аргоновой плазмы, либо оставленные необработанными, фиксировали в латеральном отделе нижней челюсти кроликов [42]. Как и в настоящем исследовании, в этом эксперименте новообразованная костная ткань покрывала трабекулы трансплантата, с разрастанием вплоть до поверхности. В другом исследовании на кроликах [34] блоки костной ткани лошади сравнивали с аутогенными костными блоками. Процентное содержание новообразованной костной ткани в обеих группах было схожим, однако показатели сохранения объема и интеграции трансплантата были лучше при применении аутологичного трансплантата по сравнению с ксеногенным трансплантатом.

Анализ, выполненный в различных областях трансплантата, позволил сделать дальнейшие предположения. В обоих периодах заживления наблюдалось высокое процентное содержание новообразованной костной ткани во всех областях, кроме верхних областей внутренних вкладок. На практике, при выполнении боковой аугментации альвеолярной кости с плоской поверхностью (без изолированного дефекта), в самой латеральной области трансплантата может наблюдаться очень низкое содержание костной ткани, что влияет на интеграцию имплантатов в этой области. В систематическом обзоре оценивали горизонтальную аугментацию альвеолярного гребня с помощью аллогенных костных блоков. При имплантации с использованием аллогенных и аутогенных костных блоков наблюдались аналогичные результаты [50,51]. В систематическом обзоре было установлено, что костные блоки также могут служить альтернативой аутогенным костным блокам [52,53].

В настоящем исследовании наблюдалось формирование новой костной ткани между основанием трансплантата и принимающим ложем. Из-за выпуклости нижней челюсти в рассматриваемой области адаптация трансплантата к поверхности не была абсолютной, что привело к образованию пустот. Тем не менее эти пустоты были заполнены новообразованной костной тканью, как уже было описано в другом исследовании, упомянутом выше [42]. Заживление на границе между пустотами и принимающим ложем было подробно описано в исследовании, в котором оценивали заживление аутогенных костных трансплантатов, полученных из свода черепа и зафиксированных с помощью позиционного или стягивающего винта [54]. Было установлено, что в этой области количество новообразованной костной ткани, которая присутствовала в небольшом количестве через 2 недели, постепенно увеличивалось, и через 40 дней трансплантат был полностью интегрирован в исходную кость нижней челюсти. В настоящем исследовании перфорация на участках трансплантации обеспечила активный остеогенез. Это было подробно описано в предыдущем исследовании [52]. Влияние перфорации на участках трансплантации оценивали в экспериментальном исследовании на 36 кроликах [41]. Аутогенные блоки, полученные из гребня подвздошной кости, размещали в латеральном отделе нижней челюсти. С одной стороны просверливали отверстия, в то время как контрольный участок оставался неизменным. Заживление оценивали через 3, 5, 7, 10, 20 и 60 дней. Авторы пришли к выводу, что перфорация индуцирует ангиогенез раньше, чем на контрольных участках, что обеспечивает более выраженное ремоделирование и более высокую плотность костного трансплантата.

В настоящем исследовании количество биоматериала снизилось приблизительно на 1/3 между 2-й и 10-й неделями. Тем не менее через 10 недель он все еще присутствовал в обоих трансплантатах. Незначительное увеличение количества остеокластов в период заживления продолжительностью 10 недель по сравнению с заживлением в течение 2 недель подтверждает предположение о продолжающейся резорбции трансплантата. Эти результаты схожи с результатами, полученными в аналогичном исследовании [42]. В этом исследовании процентное содержание ксенотрансплантата снизилось приблизительно на 1/3 между 2-й и 10-

й неделями. Однако в этом исследовании максимальное количество остеокластов наблюдалось через 6 недель.

Процентное содержание мягких тканей увеличилось в период со 2-й по 10-ю неделю. Это было отчасти связано с ремоделированием новообразованной костной ткани и образованием незрелого и зрелого костного мозга, а также с проникновением соединительной ткани во внешние области трансплантата.

Настоящему исследованию присущ ряд ограничений, таких как используемая модель, положение трансплантата, которое сильно отличается от размещения в альвеолярной кости, и более высокая скорость заживления у кроликов по сравнению с человеком. Также следует проанализировать более длительные периоды заживления. Основываясь на результатах настоящего исследования, следует выполнить клинические исследования для оценки заживления у человека.

## 5. Выводы

Процентное содержание новообразованной костной ткани увеличивалось быстрее и было выше при применении внутренних вкладок по сравнению с наружными вкладками. Этот результат может быть обусловлен строением участка размещения внутренней вкладки, которое обеспечивает больше источников для образования новой костной ткани по сравнению со строением участка размещения наружной вкладки. Остеокондуктивные свойства биоматериала позволяли новообразованной костной ткани достигать периферических областей в обеих группах. Остеокондуктивные свойства биоматериала в совокупности с защитным действием коллагеновой мембраны обеспечили возможность закрытия краевых дефектов новообразованной костной тканью в группе применения внутренних вкладок.

**Дополнительные материалы:** данную дополнительную информацию можно скачать по ссылке: [https:// www.mdpi.com/article/10.3390/ma16206742/s1](https://www.mdpi.com/article/10.3390/ma16206742/s1), Рисунок S1: Микрофотография, показывающая срез нижней челюсти кролика с различными костными разделами. Пунктирные области обозначают положение трансплантатов при внешней (onlay) и внутренней (inlay) вкладках.

**Участие авторов:** концепция, R.S., S.P.X., K.M. и D.B.; методология, R.S., S.P.X. и D.B.; проверка, K.M., Y.N., и S.B.; формальный анализ, R.S., E.R.S., и D.B.; исследование, S.P.X. и E.R.S.; ресурсы, S.P.X., D.B. и Y.N.; курирование данных, R.S. и D.B.; подготовка черновика, R.S. и D.B.; редактирование, R.S., S.P.X., D.B., и S.B.; визуализация, K.M. и Y.N.; контроль, S.P.X., D.B. и S.B.; координация проекта, S.P.X., D.B. и Y.N.; получение финансирования, S.P.X., D.B. и Y.N. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи.

**Финансирование:** проведение эксперимента финансировалось ARDEC Академией, Rimini, Italy.

**Заявление институционального наблюдательного совета:** этот исследовательский проект был одобрен Комитетом по этике использования животных Стоматологического факультета Ribeirão Preto, Университета Сан-Паулу, Бразилия, 25 сентября 2019, протокол #2019.1.619.58.2.

**Заявление об информированном согласии:** не применимо.

**Заявление о доступности данных:** данные, представленные в этом исследовании, доступны по запросу.

**Благодарности:** мы благодарим Vitor Ferreira Balan за проведение хирургических процедур и Sebastiao Blanco (Университет Сан-Паулу, Стоматологический факультет Ribeirão Preto) за обработку гистологических слайдов. Отдельная благодарность Karol Alí Arapa Alcsayhuaman (Кафедра оральной биологии Венского медицинского университета, 1090 Vienna, Austria) за научный вклад в оценку гистологических данных.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

1. Araújo, M.G.; Lindhe, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* **2005**, *32*, 212–218. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Schropp, L.; Wenzel, A.; Kostopoulos, L.; Karring, T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2003**, *23*, 313–323.
3. Avila-Ortiz, G.; Elangovan, S.; Kramer, K.W.; Blanchette, D.; Dawson, D.V. Effect of alveolar ridge preservation after tooth extraction: A systematic review and meta-analysis. *J. Dent. Res.* **2014**, *93*, 950–958. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Kotagudda Ranganath, S.; Schlund, M.; Delattre, J.; Ferri, J.; Chai, F. Bilateral double site (calvarial and mandibular) critical-size bone defect model in rabbits for evaluation of a craniofacial tissue engineering constructs. *Mater. Today Biol.* **2022**, *14*, 100267. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Schmitz, J.P.; Hollinger, J.O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **1986**, *205*, 299–308. [[CrossRef](#)]
6. Marx, R.E. Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North. Am.* **2007**, *19*, 55–66. [[CrossRef](#)]
7. Habal, M.B. Bone grafting in craniofacial surgery. *Clin. Plast. Surg.* **1994**, *21*, 349–363. [[CrossRef](#)]
8. Adell, R.; Lekholm, U.; Rockler, B.; Brånemark, P.I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int. J. Oral Surg.* **1981**, *10*, 387–416. [[CrossRef](#)]
9. Albrektsson, T.; Dahl, E.; Enbom, L.; Engevall, S.; Engquist, B.; Eriksson, A.R.; Feldmann, G.; Freiberg, N.; Glantz, P.O.; Kjellman, O.; et al. Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. *J. Periodontol.* **1988**, *59*, 287–296. [[CrossRef](#)]
10. Jemt, T.; Lekholm, U.; Gröndahl, K. 3-year followup study of early single implant restorations ad modum Brånemark. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **1990**, *10*, 340–349.
11. Misch, C.M.; Misch, C.E.; Resnik, R.R.; Ismail, Y.H. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphysis grafts for dental implants: A preliminary procedural report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* **1992**, *7*, 360–366.
12. Misch, C.E. Divisions of available bone in implant dentistry. *Int. J. Oral Implantol.* **1990**, *7*, 9–17. [[PubMed](#)]
13. Salvato, G.; Agliardi, E. Calvarial bone grafts in severe maxillary atrophy: Preprosthetic surgery with sedation. *Implant. Dent.* **2007**, *16*, 356–361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Le, B.; Burstein, J.; Sedghizadeh, P.P. Cortical tenting grafting technique in the severely atrophic alveolar ridge for implant sitepreparation. *Implant. Dent.* **2008**, *17*, 40–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Donovan, M.G.; Dickerson, N.C.; Mitchell, J.C. Calvarial bone harvest and grafting techniques for maxillary and mandibular implant surgery. *Atlas Oral Maxillofac. Surg. Clin. N. Am.* **1994**, *2*, 109–122. [[CrossRef](#)]
16. von Arx, T.; Cochran, D.L.; Hermann, J.S.; Schenk, R.K.; Higginbottom, F.L.; Buser, D. Lateral ridge augmentation and implant placement: An experimental study evaluating implant osseointegration in



- different augmentation materials in the canine mandible. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* **2001**, *16*, 343–354.
17. von Arx, T.; Cochran, D.L.; Hermann, J.S.; Schenk, R.K.; Buser, D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clin. Oral Implant. Res.* **2001**, *12*, 260–269. [[CrossRef](#)]
  18. Chiriac, G.; Hertzen, M.; Schwarz, F.; Rothamel, D.; Becker, J. Autogenous bone chips: Influence of a new piezoelectric device (Piezosurgery) on chip morphology, cell viability and differentiation. *J. Clin. Periodontol.* **2005**, *32*, 994–999. [[CrossRef](#)]
  19. Nowzari, H.; Aalam, A.A. Mandibular cortical bone graft part 2: Surgical technique, applications, and morbidity. *Compend. Contin. Educ. Dent.* **2007**, *28*, 274–280, quiz 281-2.
  20. Chiapasco, M.; Zaniboni, M.; Boisco, M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin. Oral Implant. Res.* **2006**, *17* (Suppl. 2), 136–159. [[CrossRef](#)]
  21. Nkenke, E.; Weisbach, V.; Winckler, E.; Kessler, P.; Schultze-Mosgau, S.; Wiltfang, J.; Neukam, F.W. Morbidity of harvesting of bone grafts from the iliac crest for preprosthetic augmentation procedures: A prospective study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2004**, *33*, 157–163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  22. Nkenke, E.; Schultze-Mosgau, S.; Radespiel-Tröger, M.; Kloss, F.; Neukam, F.W. Morbidity of harvesting of chin grafts: A prospective study. *Clin. Oral Implant. Res.* **2001**, *12*, 495–502. [[CrossRef](#)]
  23. von Arx, T.; Häfliger, J.; Chappuis, V. Neurosensory disturbances following bone harvesting in the symphysis: A prospective clinical study. *Clin. Oral Implant. Res.* **2005**, *16*, 432–439. [[CrossRef](#)]
  24. McAllister, B.S.; Haghghat, K. Bone augmentation techniques. *J. Periodontol.* **2007**, *78*, 377–396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  25. Buser, D.; Chappuis, V.; Belser, U.C.; Chen, S. Implant placement post extraction in esthetic single tooth sites: When immediate, when early, when late? *Periodontology 2000* **2017**, *73*, 84–102. [[CrossRef](#)]
  26. Sheikh, Z.; Najeeb, S.; Khurshid, Z.; Verma, V.; Rashid, H.; Glogauer, M. Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Materials* **2015**, *8*, 5744–5794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  27. Ciccì, M.; Cervino, G.; Herford, A.S.; Famà, F.; Bramanti, E.; Fiorillo, L.; Lauritano, F.; Sambataro, S.; Troiano, G.; Laino, L. Facial Bone Reconstruction Using both Marine or Non-Marine Bone Substitutes: Evaluation of Current Outcomes in a Systematic Literature Review. *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 27. [[CrossRef](#)]
  28. Dasmah, A.; Thor, A.; Ekestubbe, A.; Sennerby, L.; Rasmusson, L. Particulate vs. block bone grafts: Three-dimensional changes in graft volume after reconstruction of the atrophic maxilla, a 2-year radiographic follow-up. *J. Craniomaxillofac. Surg.* **2012**, *40*, 654–659. [[CrossRef](#)]
  29. Nyström, E.; Ahlqvist, J.; Legrell, P.E.; Kahnberg, K.E. Bone graft remodelling and implant success rate in the treatment of the severely resorbed maxilla: A 5-year longitudinal study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2002**, *31*, 158–164. [[CrossRef](#)]
  30. Gordh, M.; Alberius, P. Some basic factors essential to autogeneic nonvascularized onlay bone grafting to the craniofacial skeleton. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.* **1999**, *33*, 129–146. [[CrossRef](#)]
  31. Pistilli, R.; Felice, P.; Piatelli, M.; Nisii, A.; Barausse, C.; Esposito, M. Blocks of autogenous bone versus xenografts for the rehabilitation of atrophic jaws with dental implants: Preliminary data from a pilot randomised controlled trial. *Eur. J. Oral Implantol.* **2014**, *7*, 153–171. [[PubMed](#)]
  32. Al Ruhaimi, K.A. Bone graft substitutes: A comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* **2001**, *16*, 105–114.
  33. Troeltzsch, M.; Troeltzsch, M.; Kauffmann, P.; Gruber, R.; Brockmeyer, P.; Moser, N.; Rau, A.;

- Schliephake, H. Clinical efficacy of grafting materials in alveolar ridge augmentation: A systematic review. *J. Craniomaxillofac. Surg.* **2016**, *44*, 1618–1629. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
34. Silva, E.R.; Balan, V.F.; Botticelli, D.; Soldini, C.; Okamoto, R.; Xavier, S.P. Histomorphometric, Immunohistochemical and Microtomographic Comparison between Autogenous and Xenogenous Bone Blocks for Mandibular Lateral Augmentation in Rabbits. *Materials* **2021**, *14*, 6049. [[CrossRef](#)]
35. Romito, G.A.; Villar, C.C.; Sapata, V.M.; Soares, H.H.; Fonseca, M.A.; Conde, M.; Hammerle, C.H.F.; Schwarz, F. Autogenous bone block versus collagenated xenogeneic bone block in the reconstruction of the atrophic alveolar ridge: A non-inferiority randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2022**, *49*, 1158–1168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Romito, G.A.; Soares, H.H.; do Amaral, G.C.L.S.; Fonseca, M.A.; Sapata, V.M.; Conde, M.C.; Hammerle, C.H.F.; Schwarz, F.; Villar, C.C. Radiographic outcomes of ridge reconstruction with autogenous bone block versus collagenated xenogeneic bone block: A randomized clinical trial. *Clin. Oral Implant. Res.* **2023**, *34*, 863–871. [[CrossRef](#)]
37. Kolk, A.; Handschel, J.; Drescher, W.; Rothamel, D.; Kloss, F.; Blessmann, M.; Heiland, M.; Wolff, K.D.; Smeets, R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials—From space holders to innovative biomaterials. *J. Craniomaxillofac. Surg.* **2012**, *40*, 706–718. [[CrossRef](#)]
38. Esposito, M.; Grusovin, M.G.; Felice, P.; Karatzopoulos, G.; Worthington, H.V.; Coulthard, P. The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures for dental implants—A Cochrane systematic review. *Eur. J. Oral Implantol.* **2009**, *2*, 167–184.
39. Xuan, F.; Lee, C.U.; Son, J.S.; Fang, Y.; Jeong, S.M.; Choi, B.H. Vertical ridge augmentation using xenogenous bone blocks: A comparison between the flap and tunneling procedures. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **2014**, *72*, 1660–1670. [[CrossRef](#)]
40. Nyström, E.; Legrell, P.E.; Forssell, A.; Kahnberg, K.E. Combined use of bone grafts and implants in the severely resorbed maxilla. Postoperative evaluation by computed tomography. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **1995**, *24 Pt 1*, 20–25. [[CrossRef](#)]
41. Faria, P.E.; Okamoto, R.; Bonilha-Neto, R.M.; Xavier, S.P.; Santos, A.C.; Salata, L.A. Immunohistochemical, tomographic and histological study on onlay iliac grafts remodeling. *Clin. Oral Implant. Res.* **2008**, *19*, 393–401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Kanayama, M.; Botticelli, D.; Apaza Alcayhuaman, K.A.; Yonezawa, D.; Silva, E.R.; Xavier, S.P. The Impact on the Healing of Bioactivation with Argon Plasma of a Xenogeneic Graft with Adequate Fixation but Poor Adaptation to the Recipient Site: An Experimental Study in Rabbits. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* **2021**, *36*, 703–714. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Schwarz, F.; Sager, M.; Ferrari, D.; Mihatovic, I.; Becker, J. Influence of recombinant human platelet-derived growth factor on lateral ridge augmentation using biphasic calcium phosphate and guided bone regeneration: A histomorphometric study in dogs. *J. Periodontol.* **2009**, *80*, 1315–1323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Botticelli, D.; Berglundh, T.; Buser, D.; Lindhe, J. The jumping distance revisited: An experimental study in the dog. *Clin. Oral Implant. Res.* **2003**, *14*, 35–42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Carmagnola, D.; Berglundh, T.; Lindhe, J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. A experimental study in labrador dogs. *J. Clin. Periodontol.* **2002**, *29*, 377–383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Botticelli, D.; Berglundh, T.; Lindhe, J. Resolution of bone defects of varying dimension and configuration in the marginal portion of the peri-implant bone. An experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* **2004**, *31*, 309–317. [[CrossRef](#)]
47. Araújo, M.G.; Sonohara, M.; Hayacibara, R.; Cardaropoli, G.; Lindhe, J. Lateral ridge augmentation by the use of grafts comprised of autologous bone or a biomaterial: An experiment in

- the dog. *J. Clin. Periodontol.* **2002**, *29*, 1122–1131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. De Santis, E.; Lang, N.P.; Scala, A.; Viganò, P.; Salata, L.A.; Botticelli, D. Healing outcomes at implants installed in grafted sites: An experimental study in dogs. *Clin. Oral Implant. Res.* **2012**, *23*, 340–350. [[CrossRef](#)]
49. De Santis, E.; Lang, N.P.; Favero, G.; Beolchini, M.; Morelli, F.; Botticelli, D. Healing at mandibular block-grafted sites: An experimental study in dogs. *Clin. Oral Implant. Res.* **2015**, *26*, 516–522. [[CrossRef](#)]
50. Starch-Jensen, T.; Deluiz, D.; Tinoco, E.M.B. Horizontal Alveolar Ridge Augmentation with Allogeneic Bone Block Graft Compared with Autogenous Bone Block Graft: A Systematic Review. *J. Oral Maxillofac. Res.* **2020**, *11*, e1. [[CrossRef](#)]
51. Donkiewicz, P.; Benz, K.; Kloss-Brandstätter, A.; Jackowski, J. Survival Rates of Dental Implants in Autogenous and Allogeneic Bone Blocks: A Systematic Review. *Medicina* **2021**, *57*, 1388. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Starch-Jensen, T.; Vitenson, J.; Deluiz, D.; Østergaard, K.B.; Tinoco, E.M.B. Lateral Alveolar Ridge Augmentation with Autogenous Tooth Block Graft Compared with Autogenous Bone Block Graft: A Systematic Review. *J. Oral Maxillofac. Res.* **2022**, *13*, e1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Guan, D.; Zhao, R.; Guo, Y.; Li, J.; Ma, N.; Gong, J. Efficacy of autogenous tooth block for lateral ridge augmentation compared with autogenous bone block: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* **2023**, *102*, e35326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Caneva, M.; Botticelli, D.; Carneiro Martins, E.N.; Caneva, M.; Lang, N.P.; Xavier, S.P. Healing at the interface between recipient sites and autologous block bone grafts affixed by either position or lag screw methods: A histomorphometric study in rabbits. *Clin. Oral Implant. Res.* **2017**, *28*, 1484–1491. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.