

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЧАГАРОВ АРТУР АХМАТОВИЧ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ОТЕЧЕСТВЕННОГО КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ
ОБЪЕМА ПРИКРЕПЛЕННОЙ ДЕСНЫ

3. 1. 7. Стоматология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Долгалев Александр Александрович
доктор медицинских наук, доцент

Ставрополь – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Морфологическое строение и типы слизистой оболочки полости рта	14
1.2 Особенности строения мягких тканей полости рта в области дентальных имплантатов	16
1.3 Особенности развития атрофии мягких тканей полости рта при различных дефектах.....	18
1.4 Техники и способы направленной тканевой регенерации полости рта с использованием аутоканей	21
1.5 Характеристики аллогенных и ксеногенных материалов для восстановления десневого комплекса	26
Аллогенные материалы.....	26
Ксеногенные материалы	27
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1 Объекты, материалы и методы экспериментального исследования.....	31
2.1.1 Характеристика материалов, исследуемых на клеточных культурах	31
2.1.2 Методы исследования реакций клеточных культур на коллагеновые матриксы.....	35
2.1.3 Характеристика материалов, исследуемых в эксперименте на малых лабораторных животных.....	38
2.1.4 Метод гетеротопической имплантации коллагеновых материалов в эксперименте на малых лабораторных животных.....	39
2.1.5 Характеристика материалов, исследуемых в эксперименте на крупных лабораторных животных.....	41

2.1.6 Метод ортотопической имплантации коллагеновых матриксов в эксперименте на крупных лабораторных животных	43
2.1.7 Метод и критерии оценки гистологического исследования исследования биоптатов, полученных в результате экспериментов на животных	45
2.2 Объекты, материалы и методы клинического исследования отечественного коллагенового матрикса.....	48
2.2.1 Общая характеристика пациентов с дефицитом объема прикрепленной десны.....	49
2.2.2 Основные принципы и методы обследования пациентов с дефицитом прикрепленной десны	52
2.2.3 Оценка клинического состояния пациента и зоны хирургического вмешательства.....	53
2.2.4 Метод восстановления объема прикрепленной слизистой полости рта, основанный на применении отечественного коллагенового матрикса «FibroMATRIX».....	57
2.2.5 Методы статистической обработки данных, полученных в ходе исследования	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 61	
3.1 Оценка токсичности и пролиферативной активности клеточных культур, культивируемых на коллагеновых материалах.....	61
3.1.1 Исследование цитотоксичности образцов коллагеновых материалов на клеточных культурах <i>in vitro</i>	61
3.1.2 Исследование пролиферативной активности клеточных культур на образцах клеточных матриксов.....	62
3.1.3 Исследование динамики численности клеточных популяций <i>in vitro</i>	63
3.2 Морфологическая оценка результатов имплантации коллагеновых материалов в экспериментах на лабораторных животных	66

3.2.1 Гистологическая характеристика тканей в области гетеротопической имплантации (коллагеновый матрикс «1»)	66
3.2.2 Гистологическая характеристика тканей в области гетеротопической имплантации (контрольная группа – «bioPLATE Barrier»)	67
3.2.3 Результаты гистологического исследования биоптатов, полученных в экспериментах на гетеротопической модели имплантации	68
3.2.4 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Кровяной сгусток К1. (I группа, 3 месяца)	69
3.2.5 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. «Mucograft» К2. (I группа, 3 месяца)	71
3.2.6 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Коллагеновый матрикс (O). (I группа, 3 месяца)	74
3.2.7 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Кровяной сгусток К1. (II группа, 6 месяцев)	78
3.2.8 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. «Mucograft» К2. (II группа, 6 месяцев)	80
3.2.9 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Коллагеновый матрикс (O). (II группа, 6 месяцев)	82
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	87
4.1 Результаты анализа показателей болевого синдрома	87
4.2 Результаты оценки качества жизни пациентов	87
4.3 Клинические исследования трехмерного коллагенового матрикса «FibroMATRIX»	89
4.4 Оценка результатов проведенных операций по увеличению объема прикрепленной десны	90

4.5 Результаты проведенных операций по увеличению объема мягких тканей полости рта с использованием трехмерного коллагенового матрикса «FibroMATRIX» и ССТ.....	94
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	105
ВЫВОДЫ.....	110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	112
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

В клинической практике врача-стоматолога встречается большое количество пациентов с дефицитом мягких тканей полости рта, который прогрессирует с возрастом пациента. С момента диагностики дефицита прикрепленной слизистой полости рта необходимо проводить постоянную оценку размеров тканей для того, чтобы в дальнейшем оценить необходимость проведения мягкотканной пластики [63].

История вопроса аугментации мягких тканей исследуется достаточно давно. Первая публикация, имеющаяся в базе данных PubMed по запросу «soft tissue augmentation» датируется 1967 годом. С появлением в клинической практике дентальных имплантатов остро встал вопрос о значимости объема мягких тканей вокруг них, поиск научных работ по запросу «peri-implant soft tissue augmentation» показал, что исследования велись с 1994 года. С тех пор отмечается непрерывный рост количества научных работ по этим темам. На сегодняшний день ежегодно публикуется около 300 статей и исследований. При проведении поиска в доступных базах данных PubMed, eLibrary, Google Scholar по ключевым словам «ксеногенные коллагеновые матриксы» было найдено более 400 источников литературы. Резюмируя вышеизложенное, следует отметить повышенный интерес со стороны клиницистов и ученых к темам дентальной имплантологии, и поиску альтернативных и менее травматичных методов аугментации мягких тканей полости рта.

Ретроспективное исследование, основанное на 339 клинических случаях дентальной имплантации, показало, что отсутствие ороговевшей слизистой вокруг дентальных имплантатов, особенно в дистальных отделах, приводило к избыточному накоплению мягких отложений и развитию мукозита, что в конечном итоге приводит к развитию периимплантита. Следовательно, можно с уверенностью сказать, что достаточное количество периимплантной слизистой предотвращает накопление налета и атрофию мягких тканей, соответственно

снижая риск возникновения воспалительных изменений в области имплантатов [90].

На сегодняшний день хорошо исследованы методы аутотрансплантации для создания зоны кератинизированной десны. Донорским участком для забора мягких тканей, в большинстве случаев, является зона твердого неба. По своему гистоморфологическому строению трансплантаты можно разделить на полнослойные и расщепленные трансплантаты. Применение свободных десневых трансплантатов считается наиболее надежным и эффективным методом пластики мягких тканей, несмотря на его не удовлетворяющий эстетическим требованиям результат [17, 66].

За последние 20 лет были исследованы ксеногенные материалы из свиного коллагена в качестве замены свободных десневых трансплантатов. К настоящему времени рядом исследований было продемонстрировано и доказано, что коллагеновый матрикс надежен и сопоставим по получаемым результатам со свободным десневым трансплантатом как в области зубов, так и дентальных имплантатов. Также стоит отметить, что преимуществами при использовании коллагеновых материалов в мукогингивальной хирургии являются снижение инвазивности, за счет отсутствия донорского участка, и высокий эстетический результат [90].

Степень разработанности темы исследования

Недавние систематические обзоры литературы показали, что применение аутотрансплантатов мягких тканей полости рта показывают лучшие результаты с точки зрения процента восстановления области дефекта и долгосрочных результатов в отношении стабильности полученного результата [64].

Ряд авторов считает, что применение ксеногенных коллагеновых матриц показывает схожие результаты с аутоканями как гистологически, так и эстетически [88,96]. В связи с этим в настоящее время существует большое количество исследований на тему применения коллагеновых матриц в различных исполнениях и методиках в мукогингивальной хирургии. Широко

используемыми зарубежными коллагеновыми матриксами являются Mucoderm (Botiss Dental Berlin, Berlin, Germany), Geistlich Mucograft (Switzerland), однако в доступной литературе мало данных о проведении и результатах доклинических исследований материалов для направленной регенерации мягких тканей на основе ксеноколлагена отечественного производства. В диссертационных исследованиях Гарибян Э.А. и Ашурко И.П. описывается применение отечественного коллагенового матрикса «FibroMATRIX» при лечении рецессии в области зубов и увеличении глубины преддверия полости рта. Но в этих работах отсутствуют данные о доклинических исследованиях отечественного коллагенового матрикса.

Цель исследования

Разработка и внедрение в клиническую практику отечественного коллагенового матрикса для увеличения объема прикрепленной десны и повышения эффективности лечения пациентов с дефицитом мягких тканей полости рта.

Задачи исследования:

1. Оценить цитотоксичность отечественного коллагенового матрикса в эксперименте на клеточных культурах.
2. Оценить биосовместимость отечественного коллагенового матрикса на основании гистологических исследований в условиях гетеротопической имплантации на животных.
3. Оценить эффективность применения отечественного коллагенового матрикса на основании гистологических исследований в условиях ортотопической имплантации на животных.
4. Провести сравнительную оценку применения отечественного коллагенового матрикса и свободного соединительнотканного трансплантата при увеличении объема прикрепленной десны.
5. Оценить клиническую эффективность и средний прирост прикреплённой десны в области имплантации отечественного коллагенового

матрикса.

Научная новизна исследования:

Впервые в эксперименте исследован ответ клеточных культур на отечественный коллагеновый матрикс, он проявляется в отсутствии цитотоксического действия на клеточные популяции.

Впервые исследован ответ мягких тканей в условиях гетеротопической имплантации отечественного коллагенового матрикса, он заключается в отсутствии воспалительного процесса и процессах неоангиогенеза.

Впервые исследован ответ мягких тканей в условиях ортотопической имплантации отечественного коллагенового матрикса, он заключается в отсутствии воспалительного процесса и образовании оформленной соединительной ткани.

Впервые дана оценка клинической эффективности отечественного коллагенового матрикса при увеличении объема прикрепленной десны, прирост десны в области имплантации составил 1.2 ± 0.57 мм.

Обновлены практические рекомендации по использованию отечественного коллагенового матрикса для увеличения объема прикрепленной десны в стоматологической практике.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведена оценка цитотоксичности и получены новые данные об ответе клеточных популяции на образцы коллагеновых матриксов. Получены новые данные о тканевых ответах на имплантацию коллагеновых матриксов в эксперименте *in vivo* на гетеротопической и ортотопической моделях. Разработан и внедрен в клиническую практику отечественный коллагеновый матрикс для пластики мягких тканей. Клиническое исследование продемонстрировало, что применение отечественного коллагенового матрикса при увеличении объема прикрепленной десны сопоставимо по своей эффективности с аутоканями. Даны и расширены клинические рекомендации по применению отечественного

коллагенового матрикса.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось в соответствии с планом, определяющим структуру, последовательность и объем работ. На первом, экспериментальном этапе работы, были исследованы цитотоксичность и биосовместимость материалов в условиях *in vitro*. После чего были проведены исследования *in vivo*, где исследовали безопасность и эффективность коллагеновых матриксов. Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, и по результатам итогов заседания локального этического комитета Ставропольского государственного медицинского университета № 86 от 20.11.2019 года. Экспериментальные модели, разработанные в ходе исследования, отвечают всем этическим требованиям.

Работа проводилась в соответствии с принципами доказательной медицины.

Использовались лабораторные, морфологические, клинические, рентгенологические и статистические методы исследования.

Последним этапом работы стал анализ полученных результатов, их статистическая обработка и составление выводов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Отечественный коллагеновый матрикс является безопасным, нетоксичным и биосовместимым с клеточными тест-системами и тканями малых и крупных лабораторных животных, что доказано в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

2. По данным экспериментов *in vivo* и клинических исследований было доказано, что коллагеновый матрикс отечественного производства действует как биоразлагаемый каркас для заселения собственных клеток пациента, вызывая тем самым процесс реваскуляризации и роста тканей в области имплантации.

3. Разработанные и дополненные клинические рекомендации позволяют достичь стабильных и прогнозируемых клинических результатов при применении отечественного коллагенового матрикса для увеличения объема прикрепленной десны.

4. Использование коллагенового матрикса является методом выбора при лечении пациентов с дефицитом объема слизистой полости рта.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Уровень достоверности результатов, полученных в ходе исследования, определяется достаточным объемом экспериментальных исследований, достаточным количеством клинических наблюдений, корректным формированием групп сравнения. Статистическая обработка полученных результатов проводилась современными методами статистического анализа.

Тема диссертации утверждена на заседании сотрудников кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии, на заседании проблемной комиссии, на заседании этического комитета, на заседании научно-координационного совета СтГМУ.

Основные результаты исследования доложены на III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные основы регенеративной медицины и имплантологии» (Ставрополь, 2019), на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Регенеративная медицина и имплантология» (Ставрополь, 2020), на XLV Всероссийской научно-практической конференции СтАР «Актуальные вопросы хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» (Москва, 2021), на Научно-практической конференции «Инновации в стоматологии» (Москва, 2021), на Симпозиуме «Актуальные вопросы современной стоматологии» (Ставрополь, 2022), на Симпозиуме «Актуальные аспекты стоматологии» (Буденновск, 2022).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии СтГМУ 29 августа 2022 года (Ставрополь, 2022) и на заседании кафедры челюстно-лицевой хирургии и

хирургической стоматологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» г. Москва 24 ноября 2022 года (Москва, 2022).

Описанные и предложенные методы увеличения объема прикрепленной десны внедрены в хирургическую практику в ООО «Северо-Кавказский медицинский учебно-методический центр». Полученные результаты включены в учебные планы и программы обучения на кафедре стоматологии общей практики и детской стоматологии СтГМУ, внедрены в курс преподавания на кафедре хирургической стоматологии и имплантологии ФУВ ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского» при подготовке клинических ординаторов по специальности «Стоматология хирургическая», аспирантов и врачей-стоматологов хирургов.

Публикации по теме диссертации

По теме исследования опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 1 в журнале, индексируемом в международной базе данных (Scopus).

Получено свидетельство о государственной регистрации программы для электронных вычислительных машин RU 2018613066, номер регистрации 2018613066, дата регистрации 02 марта 2018 Программный модуль для обработки информационных массивов данных для объемного принтинга биотканей.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена в соответствии с требованиями ГОСТ Р7.0.11-2011 на 132 страницах машинописного текста. Рукопись диссертации состоит из введения, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 75 рисунками, 20 таблицами. Библиографический список включает 137 источников, из них 53 отечественных и 84 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Ожидания пациентов от результатов имплантологического лечения в стоматологии меняется с каждым годом, возрастают эстетические требования, которые в конечном итоге играют важную роль в определении того, что сейчас называется успехом стоматологической реабилитации [37,120]. Предсказуемость лечения частичной потери зубов путем применения дентальных имплантатов была широко изучена и научно доказана. Однако успех имплантологического лечения зависит не только от долгосрочного выживания имплантата, но и от стабильности мягких и твердых тканей полости рта [43,117,135]. Объем и толщина переимплантных мягких тканей важны для формирования биологической ширины вокруг имплантатов, проведенные исследования Zigdon H, Benic GI, Jung RE et al. свидетельствуют о том, что мягкие ткани вокруг имплантата являются ключевым фактором для выживаемости имплантатов, даже в случаях атрофии костной ткани [122]. В последние годы клиницисты сталкиваются не только с атрофиями мягких тканей в области имплантатов, но и с другими патологическими процессами, в частности с доброкачественными новообразованиями. Так в литературе описаны несколько случаев выявления эпюлиса в области дентальных имплантатов на беззубом участке челюсти, хотя известно, что источником его роста являются ткани периодонта зуба. Сформированный эпюлис практически полностью лишает область имплантата здоровой слизистой и эпителиального прикрепления, что в свою очередь сокращает срок службы самого дентального имплантата [27]. Поэтому зона адекватной кератинизированной десны толщиной более 2 мм является барьером, который защищает имплантат и подлежащую кость от воспалений переимплантных тканей [52,94,118].

В последнее время эстетические требования возросли настолько, что даже минимальный апикальный сдвиг десневого края или недостаток толщины мягких тканей, приводящий к визуализации имплантата через слизистую оболочку, может считаться неприемлемым [134,135]. И когда восстановление зубного ряда

осложняется наличием дефектов мягких тканей в эстетически значимой зоне, реабилитация таких пациентов может стать очень сложным процессом [79,81].

Увеличение объема мягких тканей полости рта с помощью аутогенных трансплантатов является широко применяемым методом восстановления дефицита прикрепленной слизистой [34, 39]. Исследования показали связь между достаточной шириной прикрепленной десны в области дентальных имплантатов с их более высокой выживаемостью и улучшением эстетического результата [121].

Соединительнотканые трансплантаты полости рта представляют собой надежный метод увеличения толщины мягких тканей в области имплантатов [24,133]. Однако, применение как свободных десневых, так и соединительнотканых трансплантатов связано со значительной инвазивностью и увеличением ноцицептивных ощущений у пациентов в послеоперационном периоде [14]. Чтобы избежать болезненности, связанной с оголением надкостницы в области слизистой твердого неба, в качестве замены аутоканям широко применяют материалы на основе коллагена ксеногенного происхождения [6].

Идеальный неаутологичный материал для замещения мягких тканей должен способствовать гемостазу, быть устойчивым к бактериальной инвазии, способствуют образованию грануляционной ткани, имеют низкую послеоперационную болезненность и быстрое время заживления [66].

1.1 Морфологическое строение и типы слизистой оболочки полости рта

Непосредственно полость рта можно разделить на две области – преддверие, которое находится между губами и щеками, также включает в себя альвеолярный отросток верхней челюсти и альвеолярную часть нижней челюсти, и собственно полость рта, расположенная в пределах зубных дуг [55]. Слизистая полости рта представлена тремя основными тканевыми структурами: эпителием, собственной пластинкой и подслизистой основой [62].

Микроскопически соединение между эпителием и собственной пластинкой отчетливо определяется. Однако сложно определить соединение между слизистой

и подслизистым слоем [62]. В некоторых областях полости рта имеются слои рыхлой жировой или железистой соединительной ткани, которая содержит кровеносные сосуды и нервные волокна, эти области отделяют слизистую оболочку от кости или мышц, лежащих в основе этих структур в области щек, губ и части твердого неба [18,32].

Эпителий ротовой полости является многослойным плоским и содержит несколько типов клеток с различной морфологией, организованной в отдельные слои [50]. Ввиду гистофункциональных различий мягких тканей полости рта их эпителиальная выстилка отличается мозаичностью, что позволяет выделить три типа эпителия: первый – многослойный плоский и неороговевающий, второй – многослойный плоский, ороговевающий путем ортокератоза, третий – многослойный плоский, ороговевающий путем паракератоза [38]. Слизистая оболочка полости рта по своему функциональному назначению подразделяется на три типа: покровный (выстилающий), жевательный и специальный [50,55, 127].

Покровный тип включает в себя: слизистую оболочку альвеолярного отростка, слизистую оболочку преддверия полости рта, слизистую оболочку щёк и губ, слизистую оболочку дна полости рта и нижних поверхностей языка, слизистую оболочку мягкого нёба [82]. Включает в себя три слоя: базальный, шиповатый и неороговевающий [62].

Жевательный тип слизистой покрывает десну и твердое небо [128]. Этот тип прочно связан с подлежащими тканями, подслизистый слой практически отсутствует. Эпителиальный слой в жевательной слизистой более склонен к ороговению. Все эти морфологические особенности приводят к тому, что жевательная слизистая устойчива к действию раздражителей, в частности к жевательной нагрузке [2, 55].

Специальный тип слизистой располагается на дорсальной части языка и отвечает за восприятие вкусовых, тактильных и температурных раздражителей за счет наличия многочисленных вкусовых луковиц и чувствительных нервных окончаний [128].

Ochsenbein & Ross в 1969 году описали два основных типа строения десны - плоский и фестончатый. Авторы отметили, что плоский тип десны в основном определялась в области зубов квадратной формы и в зонах широкой кератинизированной десны, в то время как фестончатый тип чаще встречался в зоне зубов треугольной формы. Термины «тонкий» и «толстый» биотипы десны появились позже и были введены Seibert & Lindhe [75].

Тонкий биотип десны встречается у людей астенического телосложения, характеризуется тонкой слизистой, малой зоной кератинизированной десны, и часто сочетается с мелким преддверием рта [3,49]. Тонкий биотип десны в значительно большей степени подвержен механическим травмам и атрофии [86]. Толстый биотип, напротив, характеризуется широкой зоной кератинизированной слизистой, толстой десной, выраженными костными структурами, низкими десневыми сосочками и более устойчив к травмам и атрофиям [3,14, 86].

Считается, что пациенты, у которых определяется тонкий биотип десны, относятся к группе повышенного риска развития осложнений после мукогингивальных операций [84].

1.2 Особенности строения мягких тканей полости рта в области дентальных имплантатов

В зоне имплантатов располагается некератинизированный эпителий, который по своей структуре соответствует форме эпителия полости рта и связан с поверхностью имплантата через гемидесмосомы [13]. Ткани вокруг имплантата отличаются от мягких тканей вокруг зубов по гистологическому строению и устойчивости к бактериальной инвазии за счет того, что периимплантатная слизистая состоит из большого количества коллагена, содержит меньшее количество фибробластов и отсутствует прикрепление ее коллагеновых волокон к имплантату [47]. Проведенное гистологическое исследование Ашурко и соавт, показало, что слизистая оболочка биоптатов десны в области имплантатов, где была проведена мягкотканная пластика, была выстлана многослойным плоским эпителием разной толщины, который был ограничен от сосочкового слоя базальной мембраной [9].

Эпителиальное прикрепление в области дентального имплантата начинает формироваться с миграции эпителиальных клеток, вследствие чего образуются плотные слои слизистой над костью в области имплантата. Протяженность соединительнотканного компонента в апикально-корональном направлении составляет примерно 2 мм [63]. Формирование эпителия в области шейки имплантата начинается с момента присоединения к имплантату формирователя десневой манжеты [26]. В ходе этих процессов эпителиальные клетки адаптируются к имплантату и к супраструктуре. Затем, на 2-3-и сутки, начинаются процессы пролиферации когда эпителиальные и остеогенные клетки мигрируют и за счет процессов адгезии прикрепляются к поверхности имплантата путем формирования гемидесмосом, клеточных контактов, расположенных на базальной стороне мембран эпителиальных клеток и связывающих ее с внеклеточным матриксом [13,26,63,130]. Направление коллагеновых волокон в зоне шейки имплантата в основном параллельное, они не прикрепляются к ней, при этом формируют плотные слои вокруг поверхности имплантата [13,130], образуя эпителиальное прикрепление, шириной 2 мм [26,63]. Формирование тканей продолжается на протяжении 4 недель, а после 6 недели изменений в мягких тканях не происходит [35,36]. Именно это прикрепление называется «биологической шириной» [15].

Сама концепция биологической ширины в области естественного зуба была предложена в 1961 году [132]. В отношении имплантата термин был предложен и применен в 2006 году [69,91]. Биологическая ширина в области дентальных имплантатов значительно отличается от БШ в области зубов и в большинстве случаев представляет собой измерение клинической толщины слизистой от верхней части периимплантатной десны до уровня кости. БШ в области дентальных имплантатов играет важную роль в поддержании здоровья подлежащей кости, являясь биологическим барьером [132]. Таким образом, чем больше объем и толщина мягких тканей в области дентальных имплантатов, тем выше шанс образования широкого прикрепления, тем самым повышается долгосрочный прогноз выживаемости имплантата [87]. За последние десятилетия

трактовка термина «биологическая ширина» изменилась, ряд авторов дает определение «supra crestal bone tissue», включающее в себя эпителиальное прикрепление над альвеолярной костью [15,89,137].

1.3 Особенности развития атрофии мягких тканей полости рта при различных дефектах

К причинным факторам развития атрофии и рецессии мягких тканей полости рта относят бактериологические, вирусные, травматические, сочетанные и наследственные факторы [40,37,58,136].

Бактериальная этиология. Убыль мягких тканей в полости рта в области зубов или имплантатов возникает при бактериальном обсеменении поверхностей зуба условно-патогенными бактериями [29]. Такие поражения не стоит путать с пародонтитом, когда происходит потеря соединительнотканного прикрепления за счет поражения специфическими пародонтальными патогенами с образованием пародонтального кармана. Поражение десны, вызванное бактериальным налетом, может переходить на находящиеся рядом межзубные сосочки, что будет снижать эффективность оперативных вмешательств, направленных на устранение рецессии десны [16,136]. При отсутствии качественной гигиены и последующем избыточном накоплении мягких отложений может происходить минерализация налета, и образование над- и поддесневых зубных отложений, что вызывает травму краевой десны и ее апикальное смещение [33].

Вирусная этиология. По данным ВОЗ, около 90% жителей земного шара являются носителями вируса простого герпеса, у 25% – 30% из них имеют клинические проявления, в 95% случаях носителями герпес-вирусной инфекции являются лица в возрасте 18-45 лет [4,95]. Воспаление кератинизированной десны может вызывать вирус простого герпеса [30]. Поражение начинается с пузырьков на поверхности слизистой. Очаги герпеса в полости рта чаще всего сочетаются с поражением кожи и слизистой губ. Герпесное поражение десны на первых этапах никак не влияет на атрофию слизистой в полости рта [136]. Герпетическая вирусная инфекция увеличивает агрессивность пародонтопатогенных бактерий,

которые, в свою очередь, выделяют ферменты и воспалительные факторы, инициирующие и повышающие вирулентность герпесвируса [4]. Воспалительный процесс начинает мигрировать апикальнее по мере усугубления поражения, то есть при отсутствии терапии вирусного поражения или при присоединении механической травмы [136].

Травматические факторы. Самой распространенной травматической причиной развития рецессий десневого комплекса является агрессивная чистка зубной щеткой, что чаще всего связано с неправильной техникой применения щетки, например преобладание горизонтальных движений при проведении самостоятельной гигиены [29,31]. В большинстве случаев процесс является односторонним в зависимости от преобладающей руки [33].

Неправильная чистка зубной нитью также может приводить к образованию рецессий и дефициту десны, происходит это за счет проталкивания нити в межзубной сосочек, где она повреждает мягкие ткани, минуя проксимальные поверхности зубов [40,37]. В таких случаях образуются вертикальные щелевые дефекты кератинизированной десны. Щелевые дефекты в большинстве случаев формируются в купе с рецессиями десны и за счет этого распространяются апикальнее слизисто-десневого соединения, образуя пародонтальные карманы [27]. Также предполагаемыми причинами развития воспаления и атрофии мягких тканей являются вредные привычки, такие как чистка зубов зубочистками или спичками; неправильное применение зубных флоссов и межзубных ершиков [33].

Некорректно проведенные ортопедические этапы (препарирование зубов, снятие оттисков) перед фиксацией коронки, либо завышающая пломба также могут привести к повреждению мягких тканей пародонта [29,33,41].

Ортодонтическое лечение может быть как этиологическим, так и предрасполагающим фактором повреждения десневого комплекса [56,57]. Оно часто приводит к тому, что за счет прилагаемого давления брекет-системы истончается вестибулярная костная стенка, что в свою очередь может вызвать атрофию десны [56]. При ортодонтическом лечении ситуация осложняется

затрудненной гигиеной полости рта, что может приводить к присоединению бактериальной инфекции [37].

Сочетанные факторы, это группа факторов, когда поражение десны инициируется сразу несколькими причинами. Например, неправильная техника использования зубной щетки приводит к краевой убыли десны и увеличению гиперчувствительности эмалево-цементной зоны, что ухудшает гигиену в этой области. В итоге скопление бактериального налета только ухудшает состояние десневого комплекса и приводит к развитию рецессии смешанной этиологии [16].

Наследственные факторы. Короткие тяжи и уздечки в области зубов чаще всего встречаются в области резцов на верхней и нижней челюстях [37, 41]. Патогенез рецессии в области слизистых тяжей заключается в локальном натяжении и ишемии мягких тканей в области зуба, что в конечном итоге приводит к локализованному оголению шейки зуба. Также эти области подвержены повышенному накоплению бактериального налета, за счет затрудненной гигиены, итогом чего является воспаление и убыль маргинальной десны [37].

Тонкий фенотип десны является мишенью для всех этиологических факторов, так как толщина соединительнотканного прикрепления составляет меньше 1 мм [37]. При такой толщине десны при бактериальном, травматическом, и вирусном поражении воспалительный процесс развивается достаточно быстро [33].

Прикрепленная кератинизированная десна обеспечивает стабильность десневого края и положения зубов. Обусловлено это тем, что около 60% объема матрикса соединительной ткани состоит из коллагеновых волокон. В свою очередь некератинизированная слизистая не может должным образом принимать на себя нагрузку, связанную с воздействием травматических факторов и пищевого комка. Тем самым нагрузку на себя принимает не только слизистая, но и костная ткань, которая начинается атрофироваться [136].

При аномальном положении зуба истончается вестибулярная костная стенка лунки, что в свою очередь приводит к атрофии мягких тканей [37]. За счет

особенностей строения коронковой части зуба происходит неравномерное распределение жевательной нагрузки, в результате чего страдает пародонт зубов [41].

1.4 Техники и способы направленной тканевой регенерации полости рта с использованием аутоотканей

В течение последних нескольких десятков лет было предложено большое количество техник и методов увеличения объема и восстановления утраченной слизистой полости рта [16, 26]. Erpenstein H. и Borchard R. в 2006 году систематизировали все эти методики. Среди них выделяют:

- 1) консервативное лечение;
- 2) хирургическое лечение, включающее в себя:
 - Применение аутоотканей;
 - Применение ксеногенных материалов;
 - Использование биологических стимуляторов регенеративного роста тканей (тромбоцитарная плазма)

Самыми описанными и распространенными являются техники с применением аутоотканей в виде лоскутов. Лоскуты можно разделить на:

- Однослойные – отделенные, коронально смещенные, ротированные, апикально смещенные.
- Двухслойные – расщепленные лоскуты, которые представляют собой субэпителиальный трансплантат, без эпителиального слоя.

Применение отдельных трансплантатов дает возможность использовать различные техники увеличения объема слизистой полости рта. В настоящее время широко применяются туннельная методика, методика конверта, корональное и апикальное смещение слизистой, использование свободного десневого трансплантата (СДТ) и соединительнотканного субэпителиального трансплантата (ССТ) [2,6,16].

На сегодняшний день основными методиками увеличения объема мягких тканей полости рта являются применение свободных десневых трансплантатов

(СДТ), субэпителиальных соединительнотканых трансплантатов (ССТ), свободных трансплантатов слизистой оболочки щеки и трансплантатов щечной жировой подушки [25, 45,80]. Однако использование этих методик вызывает у пациентов сильный болевой синдром, некроз пересаженного лоскута, а также несоответствие цвета трансплантата и реципиентной зоны [7, 70, 107]. Эти недостатки привели к разработке и использованию альтернативных материалов для увеличения объемов слизистой оболочки полости рта [70,107]. Данные материалы можно разделить на группы в зависимости от их получения и происхождения: аллогенные, ксеногенные и синтетические (аллопластические) материалы [2,129].

Первым, кто использовал аутоотрансплантат в дентальной хирургии, стал Bjorn H. в 1963 году. Пересаженной аутоканью был свободный десневой трансплантат [61]. Годом позже этот метод был использован в Соединённых штатах Америки врачами King и Pennel. СДТ представляет собой трансплантат, включающий в себя эпителиальный и соединительнотканый слои. Перед использованием и фиксацией в область реципиентной зоны СДТ фактически не подвергается предварительной подготовке [8,61,66,74, 133].

Свободный десневой трансплантат на сегодняшний день успешно применяется при закрытии рецессии десны, для увеличения объема слизистой полости рта и создания прикрепленной кератинизированной десны [2]. Трансплантат ведет себя довольно предсказуемо, но его использование в эстетически значимой зоне ограничено. В частности, заживающая принимающая зона значительно меняет цвет по сравнению с окружающими тканями, также возможно заживление с келоидными рубцами [8,34,74]. Традиционной зоной для получения трансплантата является зона твердого неба, реже используется область ретромолярного треугольника [20,21]. Свободный десневой трансплантат классифицируется по толщине на тонкий (0,5–0,8 мм), средний (0,9–1,4 мм) и толстый (от 1,5 до >2 мм). Тонкие трансплантаты применяют для увеличения кератинизированной десны, такие трансплантаты обеспечивают наилучшее соответствие цвета и текстуры десны. Трансплантат средней толщины подходит

для всех типов пластических операции, он обеспечивает удовлетворительный внешний вид и менее подвержен образованию вторичных рецессии. Толстый СДТ используется для закрытия оголенных поверхностей корней, более устойчив к образованию рецессии, но окончательный результат эстетически не удовлетворительный из-за несовместимости цвета и толщины [74]. Однако простота забора и применения СДТ при мукогингивальных операциях делает этот вид аутокаей методом выбора [23].

Свободный соединительнотканый трансплантат был введен в клиническую практику в 1980-х годах в качестве замены СДТ [74]. В частности в 1982 году Langer впервые описал ССТ, а в 1985 году предложил методику с применением ССТ с корональным смещением лоскута для пластики мягких тканей, в дальнейшем методики с применением ССТ дополнялись и модифицировались [16,51,103].

Недостатки свободного десневого трансплантата привели к тому, что сейчас в пародонтологической хирургии чаще используют свободный соединительнотканый трансплантат, характеризующийся отсутствием эпителиального слоя. Это делает возможным его применение во фронтальном отделе челюстей, где требования к эстетике выше [8,11,129]. Донорскими зонами чаще всего выступает твердое небо, зона слизистой прилежащей к зубам от первого премоляра до середины второго моляра, где определяется максимальная толщина мягких тканей [14,19,26,125].

Преимуществом твердого неба, как донорской зоны является обильное кровоснабжение за счет небной артерии, недостаточно развитый подслизистый слой, выражающийся ограниченным количеством железистой и жировой ткани [1,2,19]. ССТ с твердого неба предсказуемы, не обладают гиперростом, хорошо васкуляризованы [2,33]. По толщине выделяют три вида свободных соединительнотканых трансплантатов: тонкие (0,5–0,8 мм), средние (0,9–1,4 мм) и толщиной (от 1,5 до >2 мм) [74].

Реже донорской зоной выступает бугор верхней челюсти. ССТ с бугра характеризуются большим количеством кератинацитов, благодаря которым

происходит активный рост пересаженного трансплантата [2,26]. Поэтому ССТ из области бугра верхней челюсти может быть методом выбора при значительном дефиците объема слизистой. Ткани с ретромолярной области верхней челюсти также хорошо васкуляризованы и не обладают избытком жировой и железистой ткани [2,26,83].

Получение свободного соединительнотканного трансплантата имеет ряд особенностей, связанных с отсутствием эпителиального слоя. Так получение трансплантата с неба может включать отслойку ССТ методом «конверта», когда эпителиальный слой сохраняется на небе, а соединительно-тканый извлекается под эпителием, за счет проведения отслойки. Вторым способом является забор полнослойного трансплантата, и его дезэпителизация вне ротовой полости. Процесс получения аутоканей с бугра проходит легче, за счет техники забора и анатомического строения ретромолярной области верхней челюсти. Полученный трансплантат практически дезэпителизирован. Имеется ряд недостатками получения трансплантата с зоны бугра: наличие у большинства пациентов восьмых зубов, ограниченный размер получаемых тканей и потеря объема тканей ретромолярной области после забора ССТ [2,15,16,136].

Применение СДТ и ССТ является наиболее используемой процедурой при устранении дефицита объема мягких тканей полости рта [2,104]. Применение аутоканей в основном необходимо для достижения адекватной зоны ороговевшей и прикрепленной десны в области зубов и имплантатов [1,7]. Отличие свободного десневого трансплантата от соединительнотканного трансплантата заключается в том, что в первом случае полученный участок ткани имеет покровный эпителий, а во втором трансплантат получают без эпителия [2, 16,45,129]. В большинстве случаев донорской зоной являются слизистая твердого неба, эта зона является наиболее исследованной и описанной в литературе [119].

Наиболее распространенными состояниями атрофии слизистой, при которых применяются ССТ и СДТ являются неглубокое преддверие, дефицит толщины слизистой во фронтальном отделе, недостаточное количество прикрепленной десны, рецессии десны [45]. Главным преимуществом применения

аутоканей является то, что работу с трансплантатами можно выполнять на промежутке от одного до нескольких зубов с высокой предсказуемостью [129]. Но стоит отметить, что забор тканей имеет свои недостатки, а именно: заживление донорской зоны проходит вторичным натяжением, количество доступного материала для трансплантации ограничено [5]. Кроме того, процесс заживления может занять до 4 недель, и сопряжен со значительной болезненностью для пациента [112]. Стоит также отметить, что применение ССТ и СДТ сопряжено с риском некроза и отторжения трансплантата в связи с нарушением трофических процессов между донорским участком ткани и принимающим ложем [72].

Жировое тело щеки, также известное как жировой комок Биша, представляет собой важную анатомическую структуру, которая способствует формированию эстетики лица и облегчению движения лицевых мышц [71]. В хирургической стоматологии жировой комок Биша изначально применялся для закрытия сообщений полости рта с полостью носа и верхнечелюстных синусов [102,129]. В некоторых исследованиях изучалась возможность применения жирового тела щеки в областях дефектов и травм ротовой полости, поскольку оно может использоваться в качестве аутогенного трансплантата на ножке [102].

Жировое тело щеки применяют для поддержки костного графта при проведении направленной регенерации костной ткани (НРКТ), синус-лифтингов, а также для закрытия рецессий зубов [53,106]. Кроме того, исследования жировых комков щеки показали, что они содержат большое количество стволовых клеток, которые могут быть использованы в регенеративной медицине [109,129].

Применение аутотрансплантатов хотя и остается наиболее распространённым методом восстановления объема мягких тканей полости рта, но в последнее время разрабатывается и используется большое количество альтернативных материалов для пародонтологической хирургии [46,66,78].

1.5 Характеристики аллогенных и ксеногенных материалов для восстановления десневого комплекса

Аллогенные материалы

В сравнении с аутоотканями аллотрансплантаты широко доступны. Аллогенные материалы достаточно давно используются в пластической и полостной хирургии [68,131]. Также были описаны методики восстановления мягких тканей аллогенными материалами перед проведением (НРКТ) для увеличения поддержки костного графта [120].

В литературе описаны случаи применения аллогенных материалов и аллотрансплантатов для увеличения мягких тканей полости рта. Широко используемым аллогенным бесклеточным матриксом является Alloderm производства США. Имеются данные о нескольких клинических случаях использования бесклеточных кожных аллотрансплантатов для увеличения и восстановления ширины прикрепленной десны [129]. Кроме того, алломатрикс применяется для лечения дефектов слизистой оболочки полости рта, возникающих в результате опухолей, травм, заболеваний слизистой оболочки полости рта и предпротезной хирургии [114]. Операции с использованием дермальных матриксов имеют явные преимущества перед аутооттрансплантатами, так как их применение не предполагает нанесение дополнительной травмы пациенту. Кроме того, клинические исследования показали хорошие, а в некоторых случаях и более эффективные конечные результаты, чем те, которые были достигнуты с помощью аутогенных трансплантатов [129].

Matrix HD (США, Флорида) является ацеллюлярной дермой, произведенной с помощью технологий, максимально сохраняющих изначальную архитектуру коллагена. Материал состоит из трехмерных коллагеновых волокон, плотно прилежащих и переплетающихся друг с другом. В то же время матрикс сохраняет все свои физические свойства. Таким образом, материал поддерживает естественную структуру тканей, клеточную реваскуляризацию, что позволяет заселять матрикс собственными клетками пациента. Кроме того, материал

сохраняет ключевые компоненты матрицы и является биосовместимым и безопасным [76,129].

Puros Dermis (США, Колорадо) представляет собой ацеллюлярный дермальный материал, который применяется для закрытия оголенных корней зубов, для аугментации объема прикрепленной десны, создания и увеличения преддверия полости рта [100, 101, 129]. Puros Dermis производится по запатентованной методике, при которой происходит обработка аллотрансплантата кожи с сохранением биологических свойств трансплантата и удалением факторов, способных вызывать иммунный и инфекционный ответ [129].

Применение аллотрансплантатов в мукогингивальной хирургии менее предпочтительно, в отличие от применения коллагеновых матриц, так как использование аллотканей имеет ряд этических вопросов в виду человеческого происхождения. В большинстве европейских стран введены жесткие ограничения на использование аллотрансплантатов [70,73].

Ксеногенные материалы

В последнее время в клинической практике используют ксеногенные коллагеновые матрицы, которые, по мнению ряда авторов, помогают уменьшить длительность операции и снизить вероятность возникновения хирургических осложнений [48,105,124].

Коллаген представляет собой нерастворимый волокнистый белок, который составляет внеклеточный матрикс у живых организмов. Хотя коллаген используется в качестве биоматериала с 1881 года, свойства и сложная структура коллагена до сих пор являются предметом обширных исследований во всем мире [108].

Ксеногенные матрицы, используемые для увеличения мягких тканей полости рта, имеют свиное, бычье или лошадиное происхождение и содержат коллаген типов I и III, иногда в состав коллагеновых матриц добавляют сигнальные протеины и факторы роста, способствующие пролиферации клеток принимающего ложа [44, 125,129]. Коллагеновые матрицы, полученные из свиного коллагена, описаны в литературе как материалы аналогичные

аутоканям. Бесклеточный коллагеновый матрикс выступает как биоразлагаемая основа для колонизации собственными клетками организма и, помимо этого сохраняет зону для образования собственной ткани пародонта, что играет первостепенную роль для его восстановления [31]. Исследования *in vitro* и *in vivo* доказали, что коллагеновые матриксы работают как каркас, увеличивая рост и пролиферацию фибробластов, остеобластов и эндотелиальных клеток, также была обнаружена способность к значительной реваскуляризации структуры коллагена во время раннего заживления [92,97,98,99]. Ангиогенез и развитие кровеносных сосудов имеют основополагающее значение для питания, снабжения кислородом иммунных клеток, мезенхимальных стволовых клеток и факторов роста в начале периода заживления [111].

В последнее время ксеногенные материалы стали более доступными на рынке. А продуктом с наибольшим количеством проведенных и описанных исследований является двухслойный коллагеновый матрикс (Mucograft; Geistlich, Switzerland) [129]. Матрикс был разработан для увеличения объема мягких тканей вокруг корней зубов и имплантатов [60]. Также коллагеновый матрикс используется при проведении процедуры направленной костной регенерации, закрытия множественных рецессий десны разной этиологии, при восстановлении объема мягких тканей после удаления доброкачественных образований полости рта [59,77,115,123].

Mucograft представляет собой матрикс, состоящий из компактной структуры и губчатого каркаса. Наружный слой, состоит из коллагеновых волокон, не только защищает от бактериальной инвазии, но и обладает определенной эластичностью, что упрощает процесс наложения швов. Второй слой состоит из плотной, пористой, губчатой коллагеновой структуры, которая обеспечивает легкое образование кровяного сгустка, способствует ангиогенезу и интеграции тканей [93]. В исследованиях проведенными Nevins M, Nevins ML, Kim SW и др. было продемонстрировано и описано, что «Mucograft» значительно увеличивает количество прикрепленной ороговевающей десны *in vivo* [96,129].

Vignoletti F, Nunez J, Discepoli N и соавторы в собственном исследовании заявили, что «Mucograft» оказал положительное влияние на восстановление прикрепленную, ороговевающую десну и может рассматриваться как безопасный и эффективный метод лечения дефицита объема и рецессий десны [126].

Ретроспективное исследование, проведенное Giacomo Tarquini показало, что результаты применение коллагеновых матриц для увеличения зоны кератинизированной десны аналогичны результатам применения аутоотканей [116].

Применение коллагеновых матриц также показывают стабильные результаты увеличения объема кератинизированной слизистой в области ранее установленных дентальных имплантатов [5,112]. Было проведено многоцентровое клиническое исследование, в котором приняли участие 30 пациентов в возрасте от 18 до 75 лет. Критерием выбора явились пациенты с дефицитом объема прикреплённой десны в области имплантатов. Всем пациентам было проведена имплантация коллагенового матрикса в область дефекта. Контрольные осмотры и замеры толщины мягких тканей в области операции проводили спустя 3 и 6 месяцев. Результаты исследования показали, что использование коллагенового матрикса приводит к статистически значимому увеличению толщины прикреплённой слизистой в области имплантатов [113].

Целостность и объем твердых и мягких тканей полости рта значительно уменьшаются из-за физиологических и структурных изменений после удаления зубов, особенно это заметно в эстетически значимых зонах. Решением этой проблемы является применение аутогенных мягких тканей. Vivianne Chappuis и соавт. оценили безопасность и эффективность применения коллагенового матрикса в совокупности с ксеногенным костнозамещающим материалом при удалении зуба с одномоментной имплантацией. Согласно результатам исследования комбинации применения коллагенового матрикса и НКР при одномоментной имплантации безопасно, и показывает значительное увеличение толщины мягких тканей в области вмешательства [67].

На основе проведенного анализа литературы можно сделать вывод, что материалы ксеногенного и аллогенного происхождения достаточно плотно вошли в клиническую практику врачей-стоматологов в качестве замены аутологичным тканям полости рта. Применение коллагеновых матриксов позволяет избежать формирования донорской зоны и дополнительной операции в полости рта, тем самым снижая инвазивность манипуляций для пациента. Лидирующую позицию на стоматологическом рынке по праву заняли коллагеновые материалы зарубежных компаний, эффективность и безопасность которых была подтверждена многочисленными исследованиями. Отечественных же аналоги, описанные в научной литературе и применяемые для увеличения объема прикрепленной десны описаны недостаточно.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты, материалы и методы экспериментального исследования

Объектами данного исследования выступили клеточные тест-системы, малые и крупные экспериментальные животные, такие как белые крысы и овцы, пациенты с информированным согласием на этапах клинических исследований. Материалами, которые подвергались исследованию, явились коллагеновые материалы российских и зарубежных производителей (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика образцов материалов

Материалы	Код экспериментальных образцов	Характеристики
Коллагеновый матрикс «1»	O1	пористая поверхность
Коллагеновый матрикс «2»	O2	гладкая поверхность
Коллагеновый матрикс «3»	O3	без изменения поверхности
Коллагеновый матрикс «Mucograft»	K1	компактный и губчатый слой
Мембрана «bioPlate Barrier»	K2	гладкая поверхность
Кровяной сгусток	K3	-

2.1.1 Характеристика материалов, исследуемых на клеточных культурах

Исследование клеточного ответа на образцы коллагеновых матриксов проводили на клеточных тест-системах, где исследовали цитотоксичность

экспериментальных образцов, пролиферативную активность и динамику численности клеточных популяций

Для проведения доклинических испытаний *in vitro* было использовано 3 опытных образца коллагенового матрикса, которые были разработаны на производстве компании «Кардиоплант». Коллагеновый матрикс «1» представлял собой материал, поверхность которого была пористой (фиброзной) (рис.1).

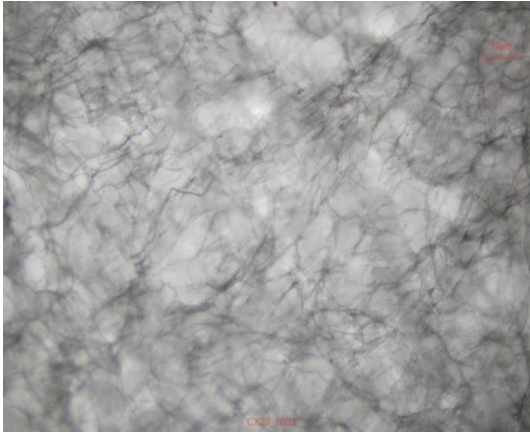


Рисунок 1 – Образец коллагеновый матрикс «1», x100

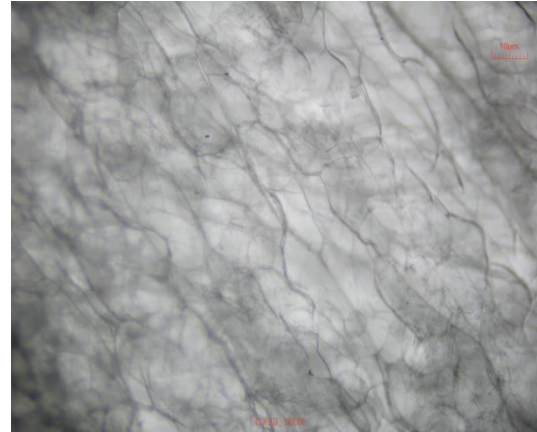


Рисунок 2 – Образец коллагеновый матрикс «2», x100

Поверхность коллагенового матрикс «2» имела гладкую (серозную) поверхность (рис. 2).

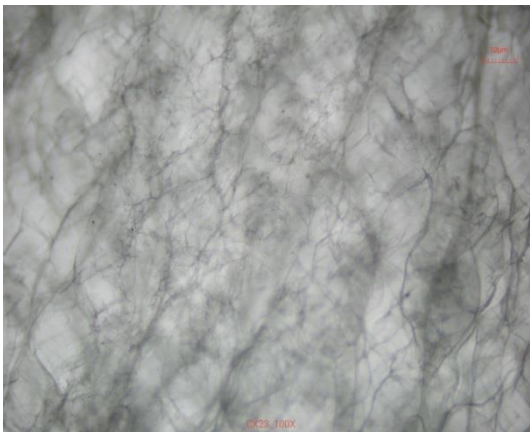


Рисунок 3 – Образец коллагеновый матрикс «3», x100

Коллагеновый матрикс «3» не имел структурных изменений поверхности (рис.3).

В качестве контроля в лабораторных исследованиях выступал коллагеновый матрикс Mucograft (Geistlich). Используемые материалы и их сравнительная характеристика представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика образцов материалов в исследованиях *in vitro*

Материалы	Код экспериментальных образцов	Характеристики
1 Коллагеновый матрикс «1»	O1	пористая поверхность 15X20 мм
2 Коллагеновый матрикс «2»	O2	гладкая поверхность 15X20 мм
3 Коллагеновый матрикс «3»	O3	без изменения поверхности 15X20 мм
4 Коллагеновый матрикс «Mucograft»	K1	компактный и губчатый слой 15X20 мм

За прототип предоставленных опытных образцов была взята барьерная мембрана «bioPLATE Barrier» (Кардиоплант), разработанная и предложенная 2017 году. Эффективность и безопасность мембраны была доказана ранее в диссертационном исследовании Бойко Е.М. в 2019 году. Для разработки нового материала индустриальным партнером были внесены конструктивные и производственные изменения в технологию изготовления коллагеновой мембраны. На сырье производилось физико-химическое воздействие, что

позволяло увеличить пористость материала, далее следовал этап мягкой обработки сшивающим агентом для стабилизации матрицы (Таблица 3).

Таблица 3 – Технологическая схема производства

Этап процесса	Основная задача этапа
Механическая чистка сырья	Предварительная очистка сырья ксеногенного происхождения
Химико-биологическая обработка	Этап необходим для повышения биосовместимости материала за счет снижения его видоспецифичности. Происходит разрушение и удаление клеточных элементов и их компонентов – основных факторов иммуногенности
Физико-химическое воздействие	Метод позволяет кратно увеличить пористость сырья. Это позволяет увеличить объем биологического материала
Мягкая обработка сшивающим агентом	Позволяет стабилизировать матрикс после обработки и после имплантации сохранять объем
Лиофильная сушка	Консервация биоматериала
Стерилизация	Стерилизация готового изделия

Это послужило обоснованием для необходимости проведения доклинических и клинических исследований уже нового продукта. Полученный коллагеновый матрикс представляет собой децеллюляризованную, подвергнутую лиофилизации, двухслойную объемную коллагеновую губку на основе соединительной ткани ксеногенного происхождения. Технология изготовления коллагенового матрикса предполагала персонализированную 3D-печать материала из сырья. Для этих целей была разработана и зарегистрирована

программа для ЭВМ: Программный модуль для обработки информационных массивов данных для объемного прINTRINга биотканей. Идея индивидуализированного производства коллагенового матрикса не была реализована из-за технической невозможности промышленной 3D-печати на производстве [42]. Поэтому было принято решение выпуска продукции со стандартизированными размерами.

Коллагеновый матрикс Mucograft (Geistlich) является материалом с наибольшим количеством проведенных исследований, написанных научных статей и доказательной клинической базой. Матрикс представляет собой плотный двухслойный материал белого цвета, размерами 15x20 и 20x30 мм, в состав которого входит свиной коллаген I и II типа. Состоит из поверхностной компактной структуры, каркас которой защищает область имплантации от механических и бактериальных повреждений. Внутренний губчатый слой придает материалу объем, а пористая структура возможность колонизации клетками пациента.

2.1.2 Методы исследования реакций клеточных культур на коллагеновые матриксы

Исследование по изучению ответа клеточных культур на коллагеновые материалы проводилось в лаборатории регенеративной медицины Центра персонализированной медицины Научно-инновационного объединения Ставропольского государственного медицинского университета младшим научным сотрудником, аспирантом кафедры патологической физиологии Диденко Н.Н..

В ходе создания клеточных тест-систем использовали мезенхимальные стромальные клетки человеческого костного мозга и человеческие диплоидные фибробласты. В культуральной среде alpha MEM при 37 °C и 5% CO₂ в воздухе, с разбавлением в 10% эмбриональной телячьей сыворотки 40 мкг/мл сульфата гентамицина, проводили выращивание клеток. В дальнейшем культивирование всех клеток проходило на этой питательной среде.

Кожный эксплантат 5×5 мм, полученный из внутренней части предплечья, очищали в фосфатном буферном растворе в течение нескольких минут, который содержит 400 мкг/мл сульфата гентамицина. Измельченный фрагмент эксплантата прикрепляли к чашке Петри для дальнейшего культивирования и покрывали питательной средой, которую меняли каждые 3 дня.

После отделения клеток от питательной среды — было проведено определение их количества. Клетки высевали в питательной среде. В экспериментах использовались клетки с 1-4 пассажами. В соотношении 1:1 провели разбавление аспирата костного мозга раствором Хэнкса. Далее эту взвесь центрифугировали в градиенте Фиколл-1077 Гистопак в течение получаса. Следом специально стерилизованной пипеткой собирали клетки на границе раздела раствора Фиколл-1077 Гистопак, и в течение пяти минут проводили растворение в среде α MEM (1:4), затем следовало центрифугирование при ускорении в 400 G.

Осадок, в котором находятся одноядерные клетки повторно суспендируют в среде α MEM с 10% эмбриональной телячьей сыворотки и переносят в чашки Петри для выращивания. В течение 2 дней клетки инкубировали. Впоследствии клетки, которые не прилипали к культуральной чашке, удаляли и приводили культивирование прилипших клеток. Каждые 2-3 дня происходила смена питательной среды. Клетки культивировали до 70-80% конфлюента. В опытах использовали от 1 до 4 пассажей клеток.

С помощью раствора для открепления клеток ACCUTASE клетки отделяли от поверхности образца и повторно суспендировали в среде L-15 с 1% телячьей эмбриональной сывороткой. В течение одной минуты клетки были окрашены раствором 0.5 % красителя трипановый синий. Счетчиком клеток Countess® II FL производили подсчет клеток. Методом прямого расчета клеток рассматривали динамику численности клеток выращенных и открепленных от поверхности образцов.

Путем прижизненного окрашивания ядерным контрастирующим веществом Hoechst и флуоресцентной микроскопией, проводили расчет количества

митотических клеток. По распределению хроматиновых характеристик эти клетки определяли при помощи флуоресцентного микроскопа Leica DM 6000. По окончании микроскопии было подсчитано более 500 клеток для проведения дальнейшего анализа.

Количество живых и мертвых клеток определяли путем окрашивания клеток флуоресцентными красителями кальцеином АМ и пропидиум йодида. Раствором для открепления клеток ACCUTASE™ проводили отделение клеток с поверхности образцов. Используя проточный цитометр Beckman Coulter EPICS XL определяли количество живых и мертвых клеток.

Применяя критерий Mann–Whitney U-test, выявляли значимость статистических различий. Результаты эксперимента были представлены как стандартная ошибка среднего (SEM). Эксперименты проводились не менее чем в 3 повторах.

Образцы исследованных культур характеризуются отношением $ИП_о/ИП_к=0.95$ ($ИП_о/ИП_к$ - отношение индексов пролиферации клеток, культивированных на контрольных и опытных питательных средах, и определяется величиной отношения количеств полученных клеток, к количеству посеянных в опытную и контрольную питательные среды), это говорит о том, что клеточные культуры мало восприимчивы к факторам, угнетающим клеточный рост.

Протокол исследования клеточных культур представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Методы исследования клеточных популяций

Критерии исследования	Способ подсчета клеточных популяций	Регистрация показателей (часы)
Цитотоксичность	Проточный цитометр Beckman Coulter EPICS XL	48 и 72
Пролиферативная активность	Флуоресцентный микроскоп Leica DM 6000.	48 и 72
Динамика численности клеточных популяций	Счетчик клеток Countess® II FL	Каждые 24 в течение 7 дней

2.1.3 Характеристика материалов, исследуемых в эксперименте на малых лабораторных животных

В эксперименте *in vivo* были использованы 2 материала: опытный образец коллагеновый матрикс (O1) и барьерная мембрана «bioPLATE Barrier» (K2) в качестве контроля.

По результатам исследований *in vitro* изучение клеточных популяций, культивируемых на опытном образце O1, показало отсутствие цитотоксичности на протяжении более длительного времени, была продемонстрирована наибольшая митотическая активность, а подсчет динамики численности клеточных популяций продемонстрировал, что материал не замедляет ее прирост. Это послужило основанием для использования образца O1 в экспериментах на животных (рис.4). В качестве контроля была использована барьерная мембрана «bioPLATE Barrier (ООО «Кардиоплант»)), которая является прототипом опытного образца коллагенового матрикса. Ее эффективность и безопасность была доказана доклиническими и клиническими исследованиями ранее.

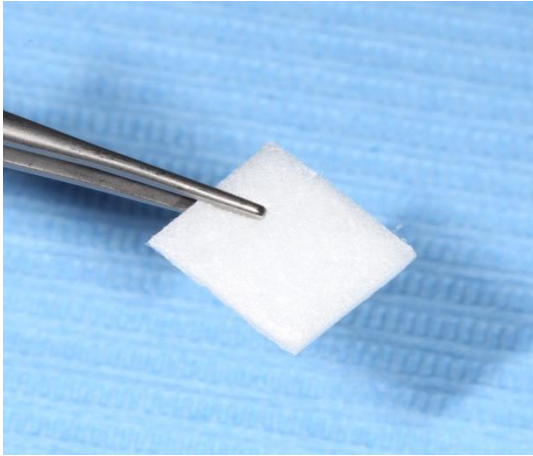


Рисунок 4 – Образец опытной группы О1



Рисунок 5 – Образец контрольной группы К2

Образец контроля (К2) представляет собой двухслойную коллагеновую мембрану, сырьем для изготовления, которой является ксеноперикард (рис.5). В процессе производства не используются стабилизирующие сшивающие агенты, за счет этого мембрана приобретает эластические свойства и обладает ускоренным сроком биорезорбции. Консервация изделия происходит при помощи лиофильной сушки.

2.1.4 Метод гетеротопической имплантации коллагеновых материалов в эксперименте на малых лабораторных животных

Для оценки биосовместимости коллагеновых матриц была использована схема гетеротопической имплантации на малых лабораторных животных.

Эксперимент проводили на базе вивария Центра экспериментального моделирования научно-инновационного объединения Ставропольского государственного медицинского университета, начальник Журбин С.А.. Имплантацию проводили профессор кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета Долгалев А.А. и аспиранты кафедры. Эксперимент проходил согласно ГОСТ ISO 10993-6-2011 путем подкожной закладки материалов. Имплантации подвергались образцы материалов размерами 10×10 мм, которые

были помещены в физиологический раствор не менее чем на 5 минут перед проведением операции (Таблица 5).

Таблица 5 – Протокол эксперимента на гетеротопической модели

Материалы	Код экспериментальных образцов	Характеристики	Количество, сторона
1 Коллагеновый матрикс «1»	O1	пористая поверхность толщина 3 – 4 мм	4 левая
2 Мембрана «bioPlate Barrier»	K2	гладкая поверхность толщина 0,15 – 0,35 мм	4 правая

Исследования на мелких лабораторных животных были проведены на четырех белых крысах массой 200-350 грамм, возрастом 3-4 месяца. Крыс держали на стандартном пищевом рационе и смене светового режима раз в 12 часов.

Операцию проводили под наркозом путем внутримышечного введения Телазола 0,2 мл и Ксилы 0,1 мл. Образцы имплантировали в карманы, сформированные вдоль средней линии спины с помощью скальпеля №15 (рис.6)

Разрез после имплантации был послойно ушит хирургическим шовным материалом «МедИнж» (рис. 7). Антисептическая обработка проведена спиртовым раствором йода 5 % .



Рисунок 6 – Формирование разрезов и имплантация образцов



Рисунок 7 – Вид ушитых разрезов

Через 30 дней крыс выводили из эксперимента, полученные образцы тканей подвергались макроскопическому и гистологическому исследованию для сравнения наличия признаков воспаления, степени резорбции и биоинтеграции.

2.1.5 Характеристика материалов, исследуемых в эксперименте на крупных лабораторных животных

Контролями в эксперименте на крупных лабораторных животных послужил сформированный кровяной сгусток (К3) и коллагеновый матрикс Mucograft (Geistlich) (К1), представляющий собой губчатое двухслойное изделие на основе коллагена (рис. 8)



Рисунок 8 – Образец контрольной группы
К1

В качестве опытного образца выступил коллагеновый матрикс производства ООО «Кардиоплант». Так как именно это изделие в условиях гетеротопической модели имплантации показало высокую биосовместимость, отсутствие воспалительных реакции и осложнений в области имплантации. Полученные данные послужили основанием для применения опытного образца коллагенового матрикса в модели ортотопической имплантации (рис.9).

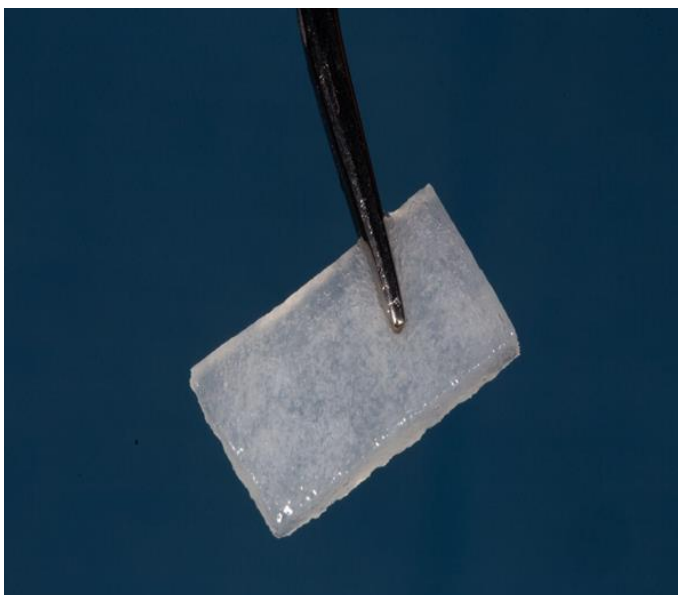


Рисунок 9 – Опытный образец
коллагенового матрикса О1

2.1.6 Метод ортотопической имплантации коллагеновых матриц в эксперименте на крупных лабораторных животных

Ортотопическая модель имплантации использовалась для исследования эффективности опытного образца коллагенового матрикса. При реализации ортотопической модели имплантации был применен принцип «разделенного рта», где правая половина челюсти является контрольной, а левая – экспериментальной. Оценка локального действия имплантируемых материалов на окружающие ткани лабораторных животных после имплантации проводилась согласно ГОСТ ISO 10993-6-2011. Эксперимент реализовывался на крупных лабораторных животных-овцах в виварии опытной станции Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства профессором кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета Долгалевым А.А. и аспирантами кафедры, заведующий виварием и главный научный сотрудник Айбазов М.М., д.с.х, профессор. Ортотопическую модель имплантации проводили на 8 овцах, которые были разбиты на 2 группы, первую из которой выводили из эксперимента через 90 дней, вторую группу спустя 180 дней. Овец содержали на обычном пищевом рационе в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Объектами исследования выступили:

- кровяной сгусток (К3);
- коллагеновый матрикс «Mucograft» (К1);
- коллагеновый матрикс «Кардиоплант» (О1);

Схема имплантации образцов приведена в таблице 6.

Таблица 6 – Протокол эксперимента на ортотопической модели

Материалы	Код экспериментальных образцов	Характеристики	Количество, сторона
1 Кровяной сгусток	К3		8 правая
2 Коллагеновый матрикс «Mucograft	К1	компактный и губчатый слой	8 правая
3 Коллагеновый матрикс «Кардиоплант»	О1	пористая поверхность	8 левая

«Все манипуляции выполнялись под наркозом, путем внутривенного введения раствора Телазол 100 - 0.03 мл/кг массы тела животного. Для премедикации применяли комбинацию препаратов: дроперидол 0,25% - 0,2 мл/кг + реланиум 0,5% - 0,2 мл/кг + трамал 1 мл внутримышечно.

В связи с тем, что у овец наблюдается высокая жевательная активность, большая нагрузка на десну, а также имеются проблемы с гигиеной полости рта, имплантация коллагеновых матриксов проводилась через внеротовой доступ к альвеолярному отростку. Перед проведением операции с места предполагаемого разреза удаляли волосяной покров с помощью одноразовой бритвы, кожу обрабатывали раствором Бетадина 10%. Операцию проводили в асептических условиях. Разрезы осуществляли в поднижнечелюстных областях длиной 7-8 см с помощью скальпеля №15 (рис.10), через которые проводился доступ к вестибулярной поверхности альвеолярного отростка правой и левой сторон нижней челюсти» [22].

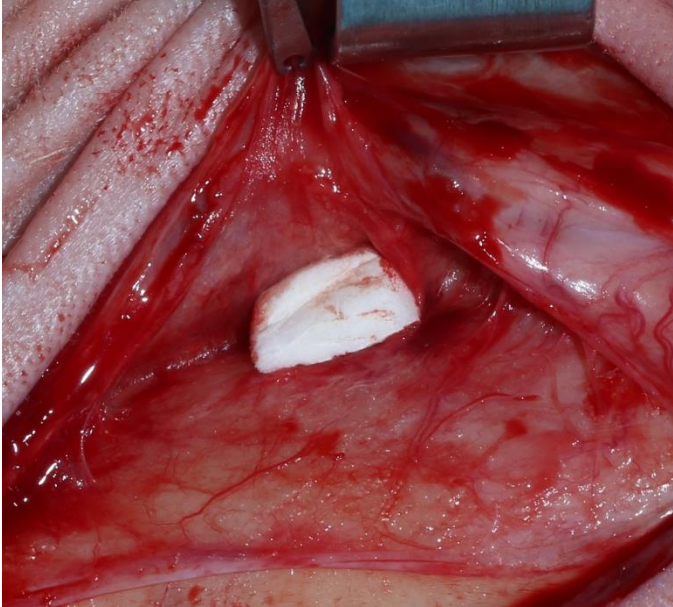


Рисунок 10 – Имплантация материалов

«Материалы исследования (коллагеновые матриксы) имплантировались в сформированные карманы в области альвеолярного гребня премолярной зоны между десной и надкостницей. Мягкие ткани послойно ушивали резорбируемым материалом Vicryl. Кожа ушивалась нерезорбируемым шовным материалом Polyamid» [22]. Послеоперационное медикаментозное сопровождение проводили под раствором Ксила 0.1 мл/кг, в качестве обезболивающего препарата, в течение 5 дней, в качестве антибиотика применяли Гентамицина сульфат 4% 1мл/кг в течение 5 дней. После проведения хирургического вмешательства овец содержали в индивидуальных загонах на обычном пищевом рационе.

2.1.7 Метод и критерии оценки гистологического исследования биоптатов, полученных в результате экспериментов на животных

Гистологическое исследование проходило на кафедре патологической анатомии Ставропольского государственного медицинского университета под руководством профессора кафедры Боташевой В.С., д.м.н.. «После выведения

животных из эксперимента, с помощью скальпеля проводили забор тканей для проведения исследования. Полученные образцы тканей подвергались макроскопическому и гистологическому исследованию для сравнения степени резорбции и биоинтеграции. Исследуемые образцы тканей фиксировали в нейтральном 7%-м формалине, проводили через батарею спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали: гематоксилином – эозином, по методу Вейгерта-Ван Гизона, Сириусом красным. Используя микроскоп с цифровой фото насадкой, с гистологических препаратов получили по пять микрофотографий. На снимках с использованием программ ImageView, ImageTool v.2.00, производили оценку: воспалительной реакции, клеточный состав, степень биорезорбции коллагеновых и эластических волокон, интенсивность биоинтеграции собственными тканями организма, активность процессов васкуляризации в области имплантации, процентное соотношение типов коллагена» [22] (Таблица 7).

Таблица 7 – Критерии оценки гистологического исследования

Образцы	Сроки забора биоптатов	Метод окрашивания	Гистологические признаки	Определен ие типа коллагена
Коллагеновый матрикс «Mucograft» (K1)	3 и 6 месяцев	Гематоксилин и эозин, по Ван Гизону, Сириус красный	Васкуляризация Биодеградация Биоинтеграция Лейкоцитарная инфильтрации	+
Мембрана «bioPlate Barier» (K2)	4 недели	Гематоксилин и эозин, по Ван Гизону	Васкуляризация Биодеградация Биоинтеграция Лимфогистиоцитарная инфильтрация	-
Кровяной сгусток (K3)	3 и 6 месяцев	Гематоксилин и эозин, по Ван Гизону, Сириус красный	Васкуляризация Биодеградация Биоинтеграция Лейкоцитарная инфильтрации	+
Коллагеновый матрикс «Кардиоплант» (O3)	4 недели, 3 и 6 месяцев	Гематоксилин и эозин, по Ван Гизону, Сириус красный	Васкуляризация Биодеградация Биоинтеграция Лейкоцитарная инфильтрации Лимфогистиоцитарная инфильтрация	+

Результаты доклинических исследований были переданы индустриальному партнеру ООО “Кардиоплант” для получения разрешения на проведения клинических испытаний коллагенового матрикса, которые проводились в МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского.

2.2 Объекты, материалы и методы клинического исследования отечественного коллагенового матрикса

Целью проведения оценки результатов применения коллагенового матрикса «FibroMATRIX» явилось исследование эффективности операций по увеличению объема прикрепленной десны в сравнении с использованием аутоканей. Пациенты были проинформированы о проводимых хирургических вмешательствах, осложнениях и течении послеоперационного периода. При наличии письменного согласия на хирургическое вмешательство пациент включался в исследование.

Критерии включения пациентов в исследование:

- возраст от 25 до 55 лет;
- включенные дефекты во фронтальном и боковом отделах с дефицитом толщины прикрепленной слизистой;
- пациенты с установленными дентальными имплантатами;
- удовлетворительная гигиена полости рта;
- отсутствие воспалительного процесса в области хирургического вмешательства;
- толщина кератинизированной десны (ТКД) 1 мм и менее.

Критерии невключения пациентов в исследование:

- пациенты с сахарным диабетом I типа, остеопорозом, проведенной тиреоидэктомией;
- отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- пациенты курильщики (более 10 сигарет в день);
- неудовлетворительная гигиена полости рта.

2.2.1 Общая характеристика пациентов с дефицитом объема прикрепленной десны

В основу данной работы положены клинические случаи пациентов, проходивших лечение в ООО «Северо-Кавказский Медицинский Учебно-Методический Центр» города Ставрополь с 2019 по 2022 гг.. Пациенты были разбиты на подгруппы в зависимости от пола, зоны вмешательства, возраста, используемой методики увеличения объема прикрепленной десны и биотипа десны.

В клиническую часть исследования вошло 108 пациентов (заседание ЛЭК № 86 от 20.11.2019 года), из них 44 мужчин (40,7 %) и 64 женщины (59,3%) (рис.11).

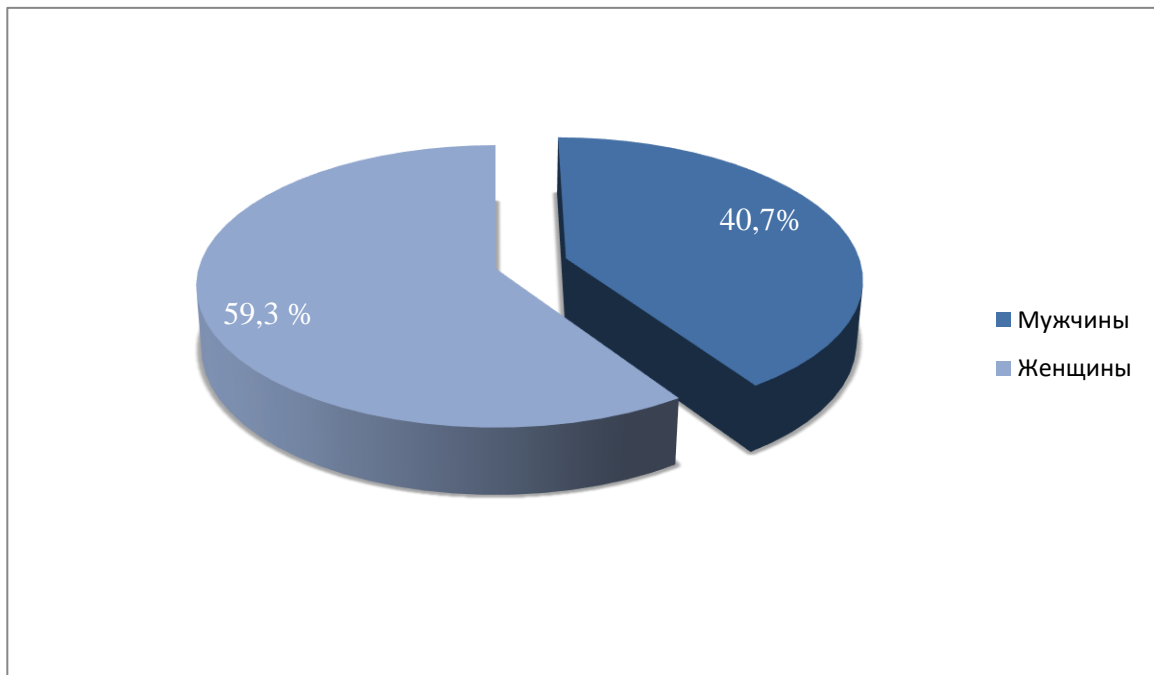


Рисунок 11 – распределение пациентов по полу

Пациенты были разделены на 2 основные группы в зависимости от метода проведения операции по увеличению объёма прикрепленной десны. Получение метода лечения пациентов было случайным для каждого исследуемого. В I группе было 65 человек (60,2%), у которых применялся свободный соединительнотканый трансплантат, во II группе был применен коллагеновый матрикс «FibroMATRIX» у 43 человек (39,8%) (рис.12).

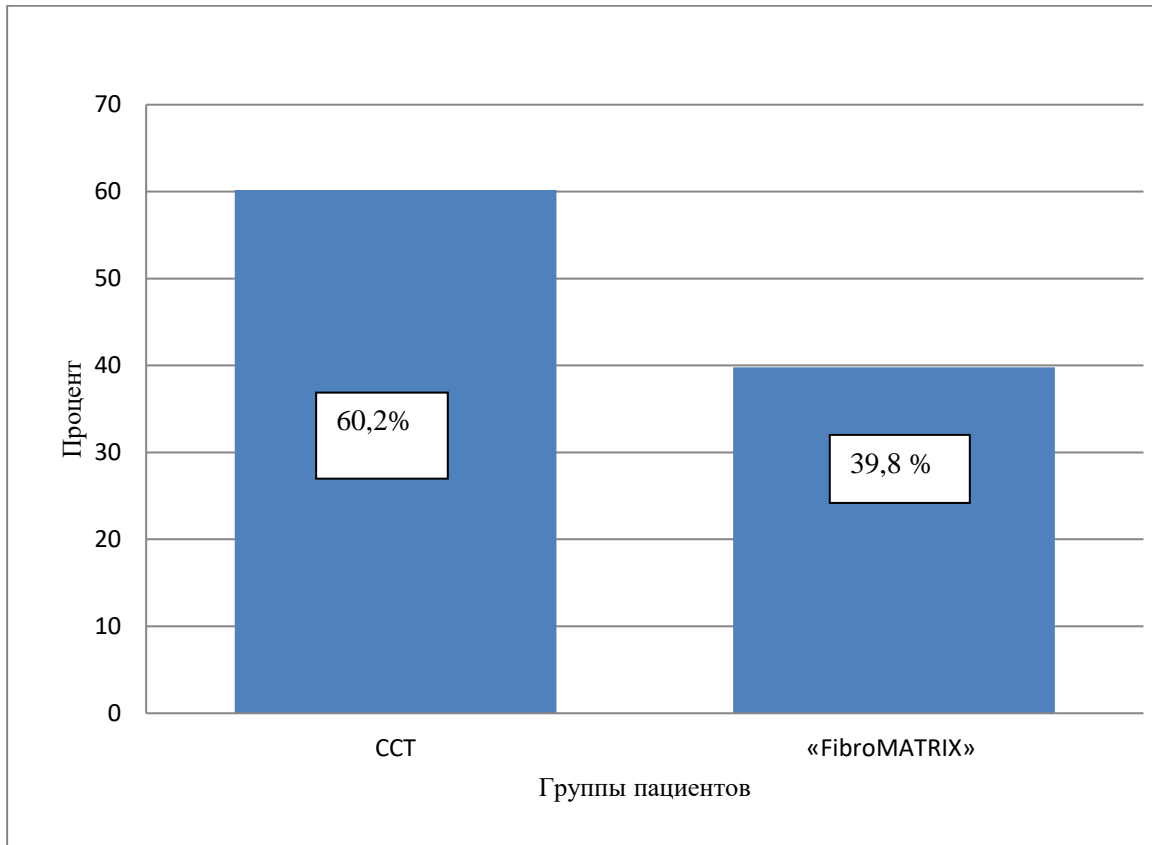


Рисунок 12 – распределение пациентов по методике проведенной операции

Также пациенты были распределены на 5 возрастных групп. Было определено, что 15 человек были в I группе (20-29 лет), из них 3 мужчин и 12 женщин. Во II группе (30-39 лет) находился 21 человек, среди которых 7 мужчин и 14 женщин. 22 человека были в III группе (40-49 лет), из них 10 мужчин и 12 женщин. 31 пациент был в IV группе (50-59 лет), из них 15 мужчин и 16 женщин. В V группе (старше 60 лет) находились 19 пациентов, среди которых было 9 мужчин и 10 женщин (рис.13).

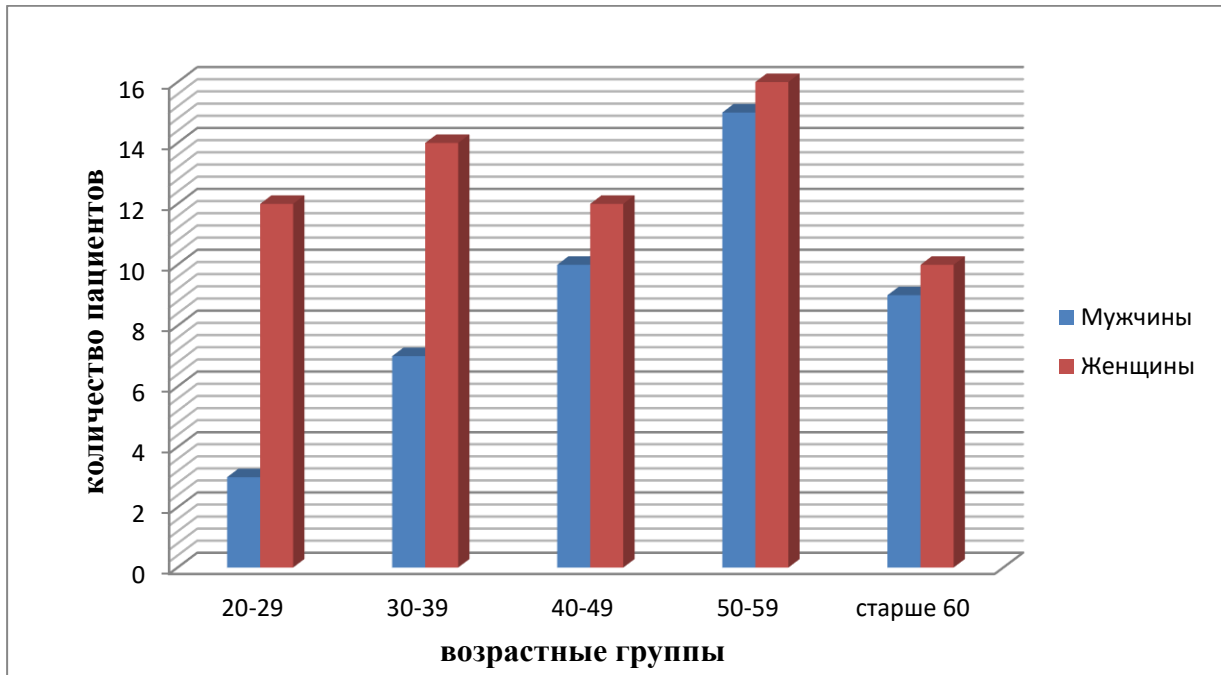


Рисунок 13 – распределение пациентов по возрастным группам и полу

Всем пациентам перед операцией был определен биотип десны и проводилось распределение в соответствующие подгруппы. Биотип десны оценивался визуально с помощью пародонтального зонда, который вводили в зубодесневую борозду рядом стоящего зуба и визуально оценивали видимость инструмента через десну. Если зонд просвечивается, то биотип десны тонкий (= или <1 мм), если зонд не просвечивался, биотип десны определяли как толстый (>1 мм) [85]. Тонкий биотип десны определялся у 63 пациентов (58,3%), а толстый фенотип у 45 пациентов (41,7%) (рис.14).

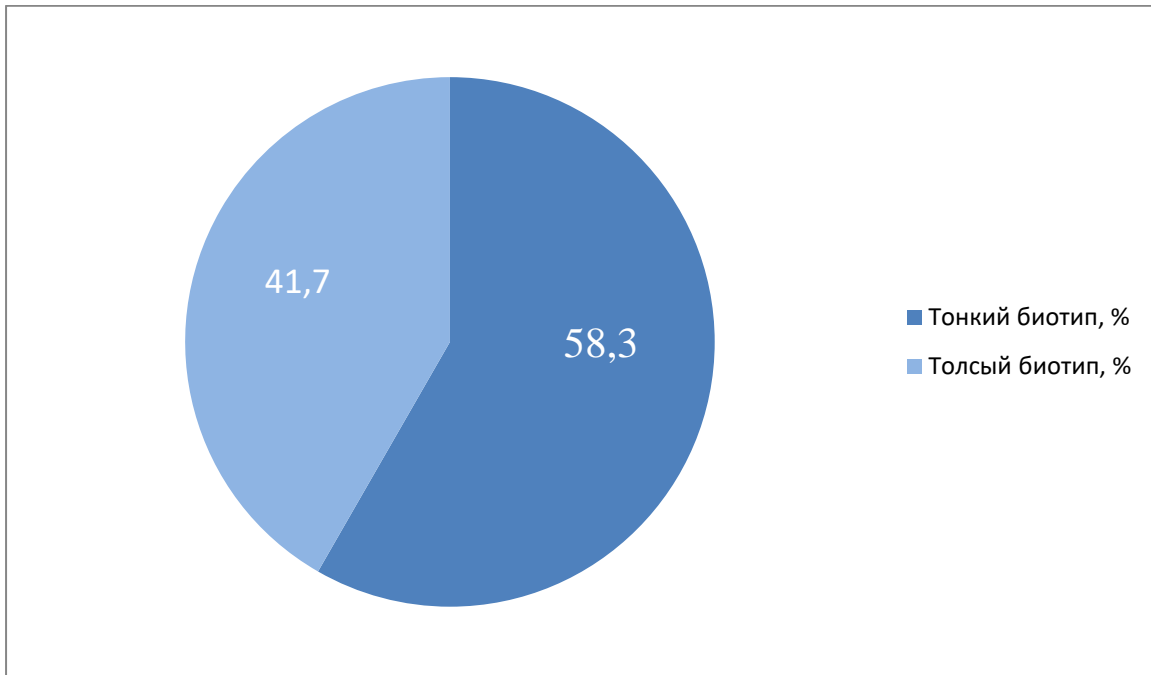


Рисунок 14 – распределение пациентов в зависимости от биотипа десны

2.2.2 Основные принципы и методы обследования пациентов с дефицитом прикрепленной десны

Всем пациентам, включенным в исследование, проводили лабораторное и клиническое обследование. В ходе опроса стандартно исследовались жалобы, анамнез жизни и анамнез заболевания, причины отсутствия зубов и атрофии мягких тканей полости рта, пациентам проводился фотопротокол, оценивалось субъективное состояние пациента и протекание послеоперационного периода.

Для контроля и сравнения изначального, промежуточного и конечного объема прикрепленной десны существуют различные техники ее измерения. Так, например Thoma D. и соавт. предлагают метод оценки толщины прикрепленной десны с помощью проведения зондирования К-файлом. Linkevicius T. и соавт. в своих исследованиях применяли градуированный зонд.

В своем исследовании, для оценки толщины прикрепленной десны, мы использовали метод сравнения сканов полости рта, полученные с помощью

внутриротового сканера 3Shape TRIOS 3. Метод заключается в сопоставлении STL файлов сканов полости рта исходной и конечной ситуации с DCM файлами КЛКТ челюстей пациента. Толщина прикрепленной десны измерялась путем проведения линии от центра альвеолярного гребня к контуру модели в область проведения мягкотканной пластики. Измерения проводились до проведения операции по увеличению толщины прикреплённой десны, спустя 1.5 и 3 месяца после. Оценка изменения толщины мягких тканей проводилась в миллиметрах.

Пациентов, у которых определялась соматическая патология, направляли к смежным специалистам для консультации и дальнейшего ведения. Целью консультаций служил скрининг пациентов с заболеваниями, при которых увеличивается риск возникновения осложнений после проведения имплантации. Из исследования исключались пациенты с сахарным диабетом I типа, остеопорозом, проведенной тиреоидэктомией.

Лабораторные исследования пациентов включали в себя: общий анализ крови, коагулограмму, биохимический анализ крови, в частности концентрация глюкозы, анализ на гепатиты В, С, и ВИЧ.

При внешнем осмотре обращали внимание на открывание и закрывание рта, то есть на функцию височно-нижнечелюстного сустава. На симметричность тканей челюстно-лицевой области, состояние кожных покровов и слизистой оболочки полости рта. Также оценивалось состояние гигиены полости рта с помощью индекса Силнеса-Лоу.

Перед имплантацией пациентам проводили санацию полости рта, включающую в себя профессиональную чистку зубов, лечение кариеса и удаление несостоятельных зубов, являющихся источниками хронической инфекции.

2.2.3 Оценка клинического состояния пациента и зоны хирургического вмешательства

Послеоперационный период у большей части пациентов протекал без особенностей. У всех пациентов наблюдались стандартная триада симптомов, характерная после оперативных вмешательств: умеренные боли и отек в области

операции, субфебрильная температура. Пациентам были даны следующие рекомендации:

- 1) ротовые ванночки антисептиком: Мирамистин 0.01%, 2-3 раза в день, до снятия швов;
- 2) холод поверхностно в область операционного вмешательства, в течение первого час после операции;
- 3) нестероидный противовоспалительный препарат: ибупрофен по 200 мг 3-4 раза в день, в течение 4 дней;
- 4) антибиотик: Флемоклав Салютаб по 1000 мг 2 раза в день, в течение 5 дней (назначался при больших объемах хирургических вмешательств).

Для оценки болевого синдрома после проведения операционного вмешательства была использована визуальная 10-бальная шкала оценки боли. Фиксация данных проходила на 7, 14 и 30 сутки в обеих группах. Приходя на прием, пациенты субъективно оценивали выраженность болевого синдрома от 0 до 10, необходимо было отметить интенсивность боли на данный момент (рис. 15).



Рисунок 15 – Шкала оценки боли

Показатель 0 - «нет боли», от 1-2 баллов – «слабая боль», 3-4 баллов – «умеренная боль», 5-6 баллов – «сильная боль», 7-8 баллов – «очень сильная боль», 9-10 баллов – «нестерпимая боль».

Качество жизни и состояние пациентов после хирургического вмешательства оценивалось по опроснику «ОНП-14» перед проведением операционного вмешательства, спустя 7, 14 и 60 дней после проведения

операции. Опросник может применяться у всех возрастных групп и при любых состояниях полости рта. Перевод на русский язык и валидация данного опросника была представлена в работе авторов Барер Г.М., Гуревич К.Г., Смирнягина В.В., Фабрикант Е.Г. (Таблица 8).

Таблица 8 – Опросник ОНIP-14

Вопрос	0	1	2	3	4
1. Испытываете ли Вы проблемы с произношением слов из-за дискомфорта в полости рта?					
2. Ухудшились ли Ваши вкусовые ощущения из-за проблем в полости рта?					
3. Испытывали ли Вы болезненность в полости рта?					
4. Вызывает ли у Вас затруднение прием пищи из-за проблем с зубами, слизистой оболочкой полости рта или протезами?					
5. Испытываете ли Вы смущение из-за проблем в полости рта?					
6. Чувствуете ли Вы себя более напряженным из-за дискомфорта, связанного с зубами или протезами?					
7. Испытывали ли Вы ощущение неудовлетворённости от приема пищи из-за проблем, связанных с полостью рта?					
8. Приходилось ли Вам прерывать прием пищи из-за проблем с зубами, слизистой оболочкой полости рта или протезами?					
9. Мешают ли проблемы, связанные с дискомфортом в полости рта, Вам отдыхать?					
10. Испытывали ли Вы смущение из-за дискомфорта в полости рта?					
11. Приводят ли проблемы в полости рта Вас к повышенной раздражительности при общении с людьми?					
12. Испытывали ли Вы сложности при выполнении работы из-за дискомфорта полости рта?					
13. Отмечаете ли Вы, что качество жизни в целом ухудшилось из-за проблем в полости рта?					
14. Чувствовали ли Вы себя полностью нетрудоспособным из-за проблем в полости рта?					

Данные, полученные по опроснику, были использованы для проведения анализа и оценки качества жизни пациента в послеоперационном периоде.

2.2.4 Метод восстановления объема прикрепленной слизистой полости рта, основанный на применении отечественного коллагенового матрикса «FibroMATRIX».

Основываясь на результатах завершенных доклинических испытаний, компанией-разработчиком отечественного коллагенового матрикса (ООО «Кардиоплант», г.Пенза) была подана заявка в Росздравнадзор для получения разрешения на проведение клинических испытаний. Данные испытания были проведены в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. По окончании клинических испытаний было выдано регистрационное удостоверение, разрешающее применение коллагенового матрикса в клинической практике, а материалу присвоено коммерческое название 3D-матрикс коллагеновый «FibroMATRIX».

Метод увеличения объема прикрепленной десны с применением коллагенового матрикса «FibroMATRIX» заключается в имплантации материала в область дефекта слизистой. Методика проведения операции, предложенная нами, является модификацией метода, по которому проводили операции при клиническом исследовании коллагенового матрикса.

Пациентам под инфильтрационной анестезией проводились разрезы слизистой и отслойку слизисто-надкостничного лоскута в области дефицита прикрепленной десны. Далее расщепляли слизисто-надкостничный лоскут и формировали вестибулярный карман, в который имплантировали коллагеновый матрикс, предварительно замоченный в физиологическом растворе 0,9%. Матрикс фиксировали П-образными швами из резорбируемого шовного материала к слизистой, после чего рану ушивали нерезорбируемым шовным материалом. Были даны стандартные послеоперационные рекомендации: холод в область операции в течение первого часа, НПВС, ротовые ванночки антисептиками. Пациентов после операции назначали на осмотр, на следующий день, далее - на снятие швов через 8-10 дней после операции.

Этапы проведения имплантации коллагенового матрикса представлены на фото:



Рисунок 16 – Вид изначальной ситуации

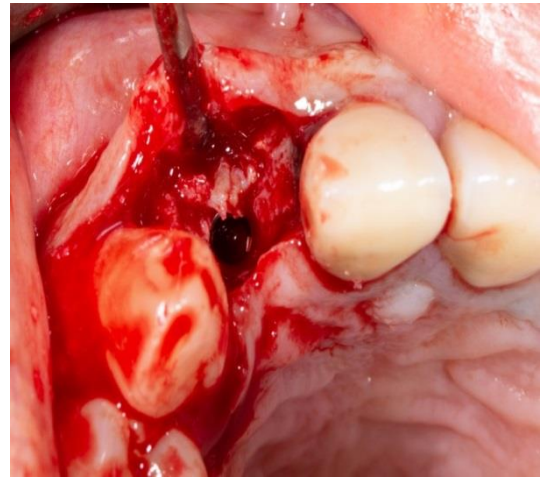


Рисунок 17 – Отслойка
слизисто-надкостничного
лоскута и установка имплантата
в зону 1.2

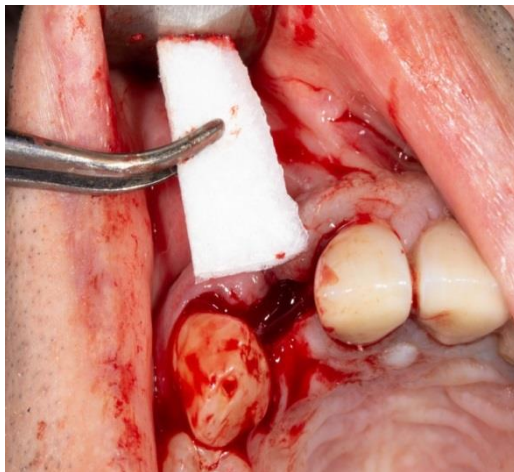


Рисунок 18 – Вид материала
непосредственно перед
имплантацией

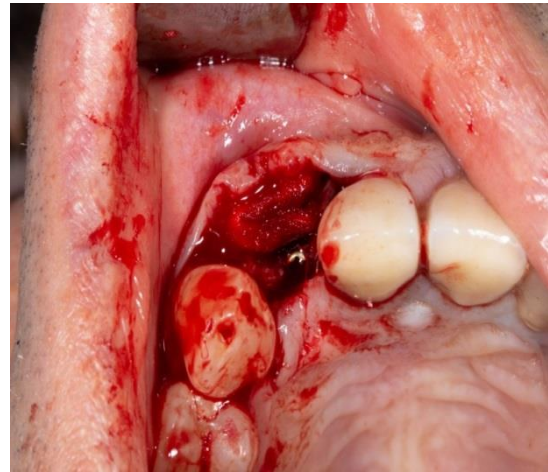


Рисунок 19 – Имплантация
материала

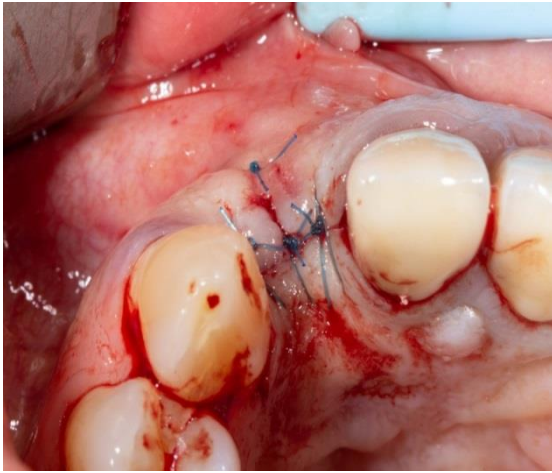


Рисунок 20 – Вид ушитой раны
(окклюзионный вид)



Рисунок 21 – Вид ушитой раны

2.2.5 Методы статистической обработки данных, полученных в ходе исследования

Статистический анализ основан на базе данных имплантационных пациентов, которая является результатом сводки и группировки материалов статистических наблюдений с 2012 по 2022 годы.

При проведении анкетирования полученные данные заносили в таблицу и проводили анализ. Результаты были представлены как среднее значение \pm среднеквадратичное отклонение.

Достоверность всех обнаруженных экспериментальных зависимостей была проверена статистически. Значимость факторов определялась по значениям р-Value статистических критериев. При значениях р-Value меньших или равных 0.05, фактор является значимым. Критерии выбирались для каждой пары фактор-отклик индивидуально в зависимости от шкалы представленных данных (числовая, номинальная или порядковая), закона распределения (нормальное распределение или не нормальное) и количества сравниваемых выборок.

Для устранения влияния значимых факторов друг на друга, фильтровали выборку последовательно по всем значимым факторам и определяя влияние всех остальных факторов.

Для проверки гипотезы о принадлежности исследуемой выборки нормальному закону распределения, использовали критерий Андерсона-Дарлинга.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Оценка токсичности и пролиферативной активности клеточных культур, культивируемых на коллагеновых материалах

3.1.1 Исследование цитотоксичности образцов коллагеновых материалов на клеточных культурах *in vitro*

Цитотоксичность исследуемых образцов к клеточным популяциям определяли спустя 48 и 72 часа с момента культивирования.

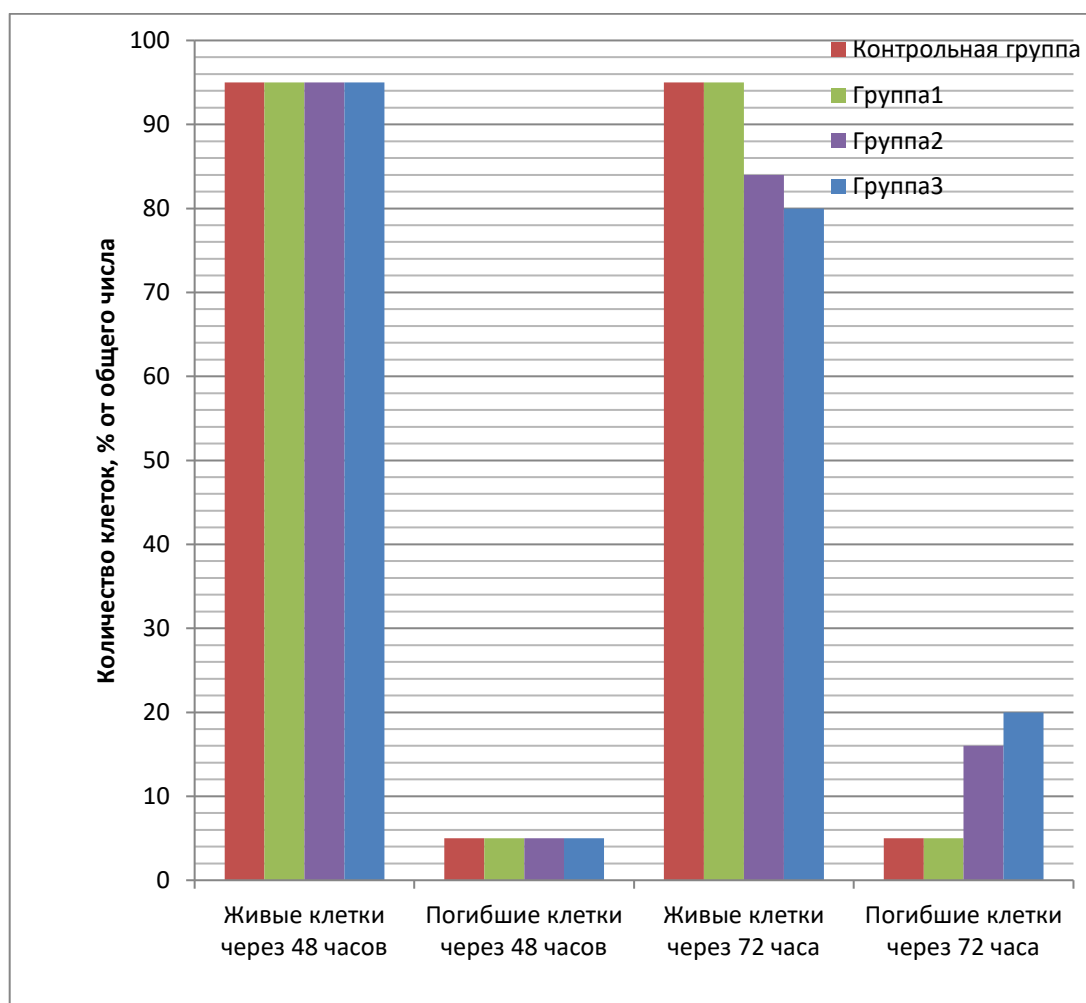


Рисунок 22 – цитотоксичность опытных образцов через 48 и 72 часа культивирования на их поверхности мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека

Клетки окрашивали флуоресцентными красителями кальцеином АМР и пропидиум йодида. Подсчет количества живых и мертвых клеток проводили с помощью проточного цитометра Beckman Coulter EPICS XL.

Представленные на рисунке 22 результаты показывают, что после 48 часов живые количество живых клеток во всех группах составляло 90% клеток от общего числа, а количество погибших клеток 5% от общего числа, это говорит о том, что группы опытных образцов и образцы контрольной группы не обладали токсичностью по отношению к клеткам через 48 часов культивирования.

Цитотоксическое действие было повышено после 72 часов культивирования на образцах коллагеновый матрикс «3» и составляло 20% клеток от общего числа.

3.1.2 Исследование пролиферативной активности клеточных культур на образцах клеточных матриксов

Спустя 48 и 72 часа после начала культивирования определяли митотическую активность клеток на исследуемых образцах матриксов (рис.23).

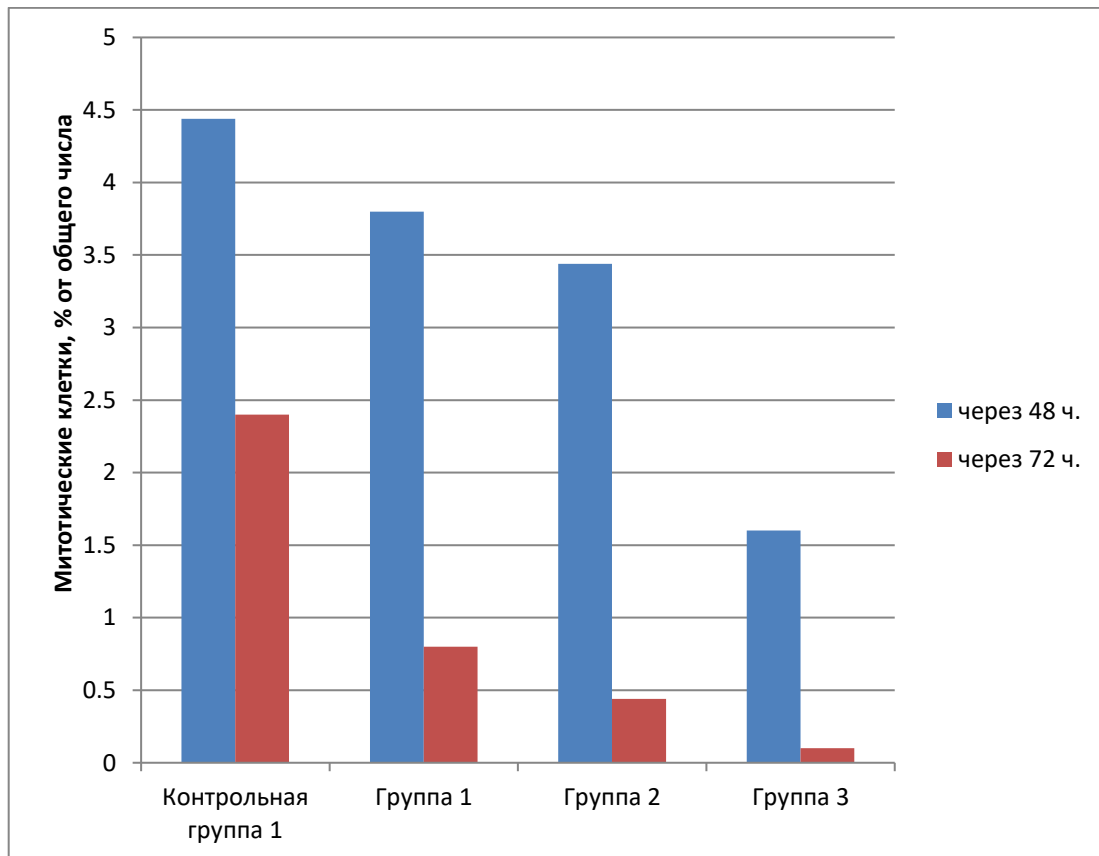


Рисунок 23 – цитотическая активность мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека через 48 и 72 часа культивирования на поверхности экспериментальных биоматериалов

Путем окрашивания ядерным контрастирующим веществом Hoechst и флуоресцентной микроскопией, проводили расчет количества митотических клеток. Клетки определяли по распределению хроматиновых характеристик при помощи флуоресцентного микроскопа Leica DM 6000.

Данные, представленные на рисунке 8, дают понять, что митотическая активность мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека, культивируемых в образцах опытной группы коллагенового матрикса ОЗ, снижается через 48 часов и составляет 1.6% митотических клеток от общего числа. Наибольшая митотическая активность клеток была продемонстрирована при культивировании в опытных образцах коллагенового матрикса О1 и О2, а также в образцах из контрольной группы К1, а это 4.4%, 3.7% и 3.4% митотических клеток от общего числа соответственно.

3.1.3 Исследование динамики численности клеточных популяций *in vitro*

Регистрируя количество клеток каждые 24 часа, в течение 7 дней, проводилось определение динамики клеточных популяций, выращиваемых на поверхности опытных образцов.

Клетки окрашивали раствором 0.5 % красителя трипановый синий. Подсчет клеток производили счетчиком Countess ® II FL. Методом прямого расчета клеток рассматривали динамику численности клеток выращенных и открепленных от поверхности образцов.

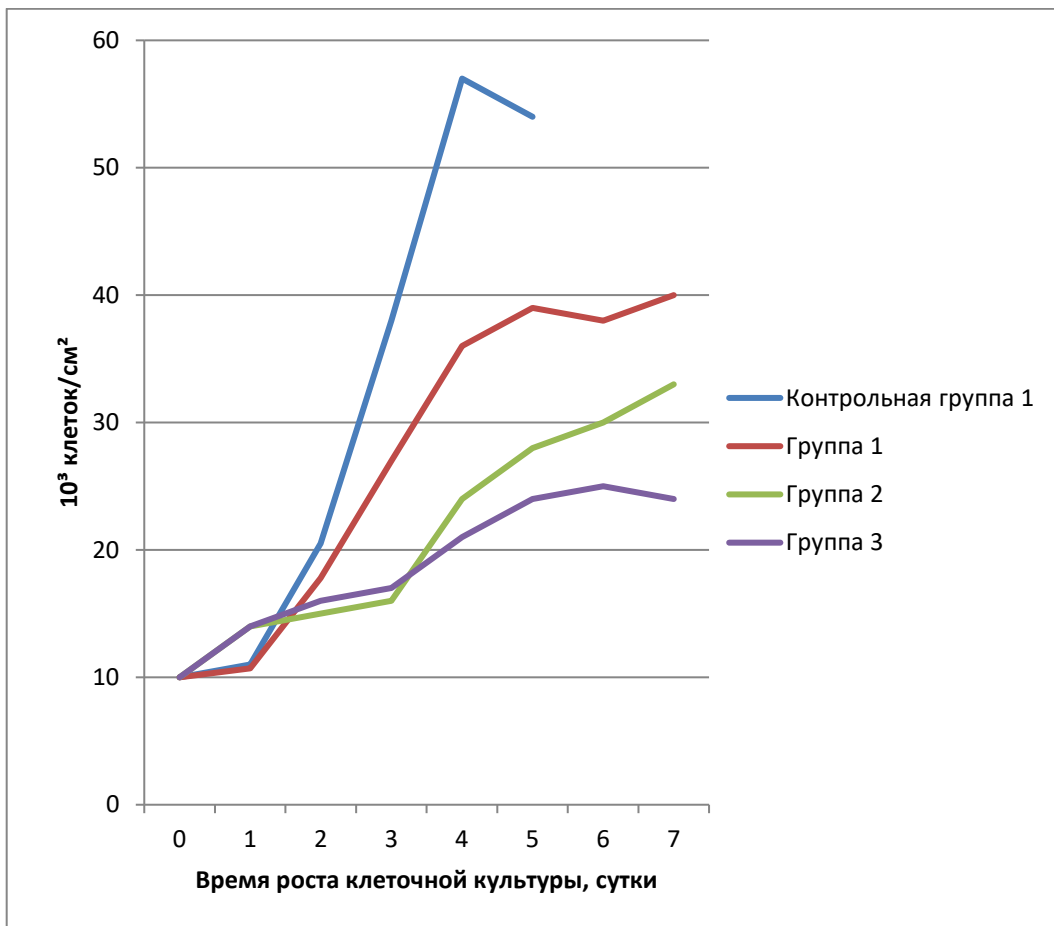


Рисунок 24 – кривые роста мезенхимальных стромальных клеток костного мозга культивируемых на поверхности экспериментальных биоматериалов

Данные, показанные на рисунке 24 говорят о том, что мезенхимальные стромальные клетки костного мозга человека, культивированные на опытных образцах коллагенового матрикса О3, имеют малый прирост клеток до 5×10^4 клеток на 1 см^2 . На образцах коллагенового матрикса О2 были получены аналогичный график роста клеток, с наибольшим приростом клеток до $3,5 \times 10^4$ клеток на 1 см^2 . Максимальное увеличение количества клеток было получено при культивировании на образцах контрольной группы К1 и экспериментальных образцах коллагенового матрикса О1 (Таблица 9).

Таблица 9 – Динамика численности клеточных популяций

Обр азцы	МАХ прирост 10^3 клеток/см²	Время (сутки)
О1	40×10^3	7
О2	33×10^3	7
О3	25×10^3	6
К1	57×10^3	4

По результатам исследований на клеточных тест-системах можно сделать следующие выводы:

1. Экспериментальные образцы групп и образцы контрольной группы не имели цитотоксического эффекта на культивируемые клетки через 48 часов. Спустя 72 часа культивирования, было определено увеличение цитотоксического действия для 20% клеток от общего числа одного из образцов экспериментальной группы.

2. Доказано, что митотическая активность мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека, культивированных на опытных образцах, снижается через 48 часов, что составляет 1.6% митотических клеток от общего числа. Наибольшая митотическая активность клеток была показана при культивировании на опытных образцах 1 и 2 группы и контрольной группы, а это 4.4%, 3.7% и 3.4% митотических клеток от общего числа соответственно, что говорит об отсутствии подавления митотического роста экспериментальными образцами.

3. Исследование динамики численности клеточных популяции показало, что мезенхимальные стромальные клетки костного мозга человека, культивированные на опытных образцах, имеют прирост клеток от 3×10^4 до 5×10^4 клеток на 1 см^2 . Прирост количества клеток образцах контрольной группы составлял 6×10^4 клеток на 1 см^2 . Эти данные свидетельствуют, что экспериментальные образцы не замедляют прирост клеточных популяций.

3.2 Морфологическая оценка результатов имплантации коллагеновых материалов в экспериментах на лабораторных животных

3.2.1 Гистологическая характеристика тканей в области гетеротопической имплантации (коллагеновый матрикс «1»)

Животные были выведены из эксперимента спустя 4 недели после имплантации образцов. Результаты микроскопического исследования образцов свидетельствуют о том, что биоинтеграция материалов

происходила на всю толщину образцов у всех животных, биодеградация образцов определялась по краю имплантированных образцов у всех крыс. Множественные новообразованные кровеносные сосуды были хорошо визуализированы в области материалов (рис.25, 26).

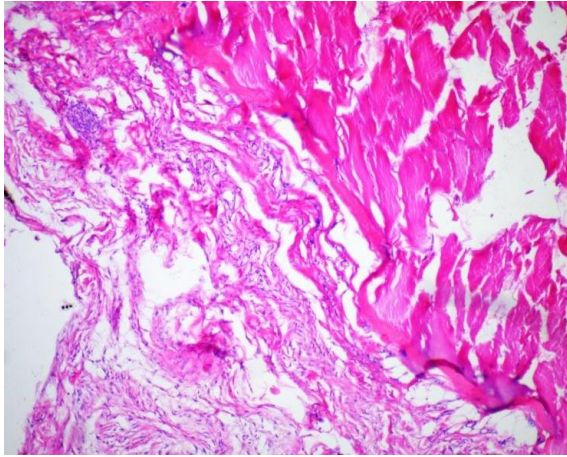


Рисунок 25 – опытный образец 1 группы 1 (окрашивание по Ван Гизону)

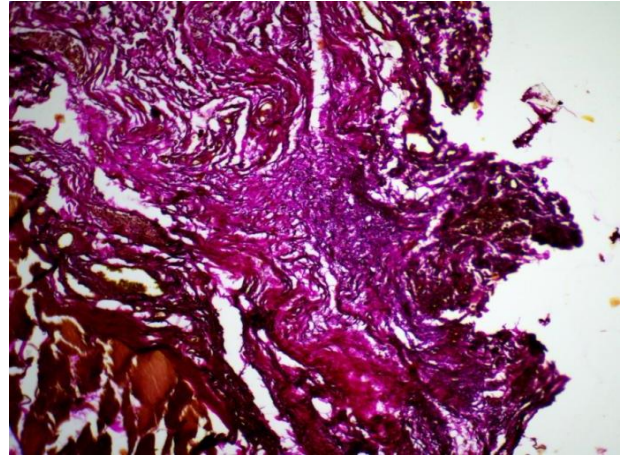


Рисунок 26 – опытный образец 1 группы 2 (окрашивание гематоксилин – эозином)

Лимфогистиоцитарная инфильтрация отсутствовала по периферии образцов у всех животных, что говорит об отсутствии хронического воспаления.

3.2.2 Гистологическая характеристика тканей в области гетеротопической имплантации (контрольная группа – «bioPLATE Barrier»)

Животные были выведены из эксперимента спустя 4 недели после имплантации образцов контрольной группы. Результаты гистологических исследований образцов показали, что биоинтеграция проходила неравномерно. В области имплантации встречались одиночные новообразованные кровеносные сосуды, что говорит о слабой

васкуляризации тканей. Биодegradация материала проходила слабо и только по краю образцов (рис.27, 28).

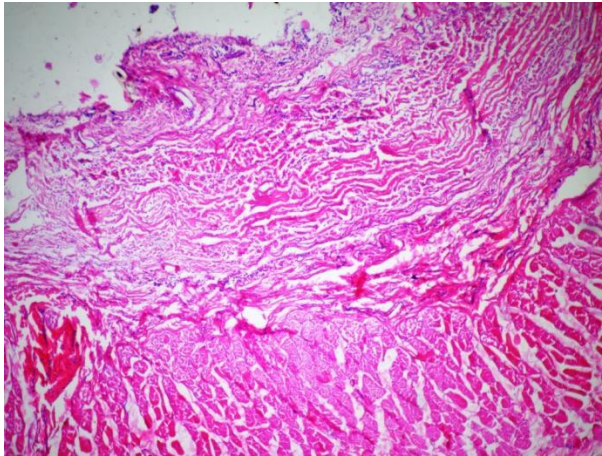


Рисунок 27 – контрольный образец группы 4 (окрашивание по Ван Гизону)

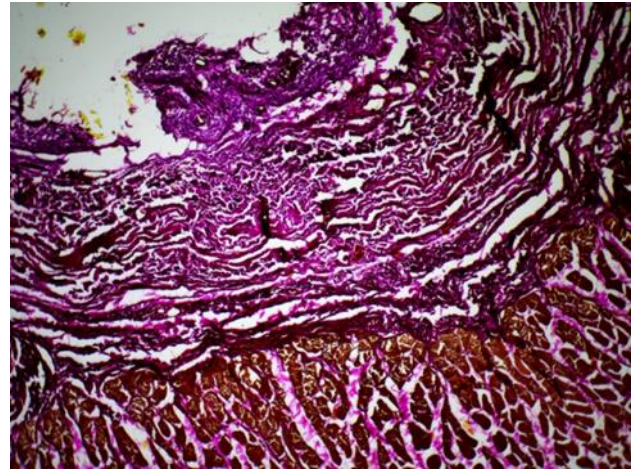


Рисунок 28 – контрольный образец 1 группы 3 (окрашивание гематоксилин – эозином)

Лимфогистиоцитарная инфильтрация отсутствовала по периферии образцов у всех животных, что говорит об отсутствии хронического воспаления.

Результаты гистологического исследования опытного образца коллагенового матрикса показали, что в местах имплантации отсутствовал воспалительный процесс, процессы неоангиогенеза были выражены, определялась полная биоинтеграция между волокнами образцами это дало основание для проведения исследований на ортотопической модели имплантации.

3.2.3 Результаты гистологического исследования биоптатов, полученных в экспериментах на гетеротопической модели имплантации

При исследовании препаратов, критериями оценки явились степень, биоинтеграции и биодegradации имплантируемых образцов, оценка процессов неоангиогенеза в области имплантации, наличие лимфогистиоцитарной инфильтрации (Таблица 10).

Таблица 10 – Гистологическая оценка результатов

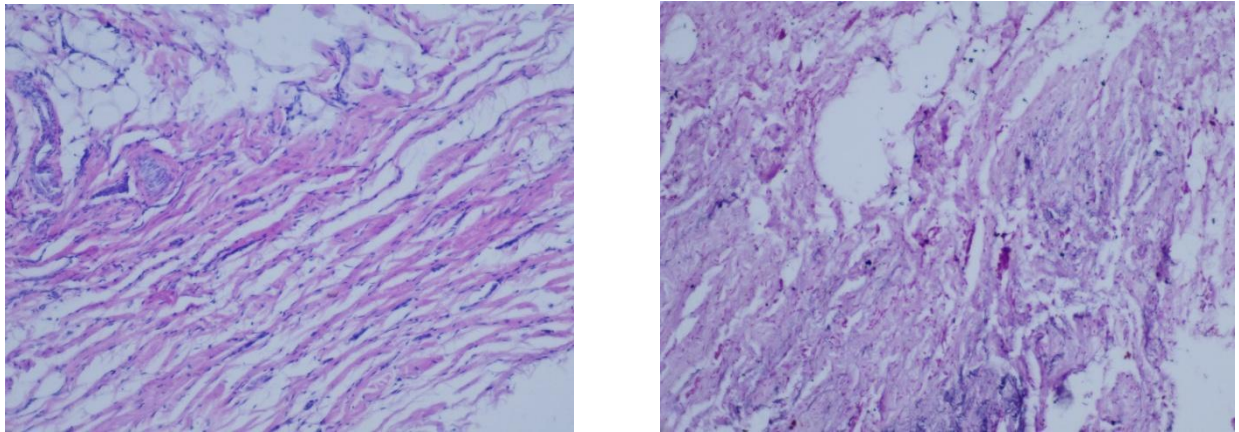
Образцы	Биоинтеграция	Биодеградация	Неоангиогенез	Лимфогистиоцитарная инфильтрация
1 Коллагеновый матрикс «1»	на всю толщину образцов у всех животных	по краю имплантированных образцов	множественные новообразованные кровеносные сосуды	отсутствовала
2 Мембрана «bioPlate Barier»	неравномерно	слабо выражена	одиночные новообразованные кровеносные сосуды	отсутствовала

Результат исследования коллагеновых материалов на гетеротопической модели показал, что образцы не имели токсического эффекта на окружающие ткани, определялись биоинтеграция и биодеградация материалов.

3.2.4 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Кровяной сгусток К1. (I группа, 3 месяца)

Исследование гистологических препаратов, полученных при выведении из эксперимента животных через 90 дней показало, что воспалительных процессов не наблюдалось, лейкоцитарной инфильтрации не определялось (рис. 29А, 30А). Область контроля была представлена оформленной соединительной тканью. При исследовании процессов неоангиогенеза были выявлены единичные кровеносные сосуды, между которыми было обнаружено небольшое количество лимфоцитоподобных клеток соединительной ткани, но преимущественно определялись фиброциты.

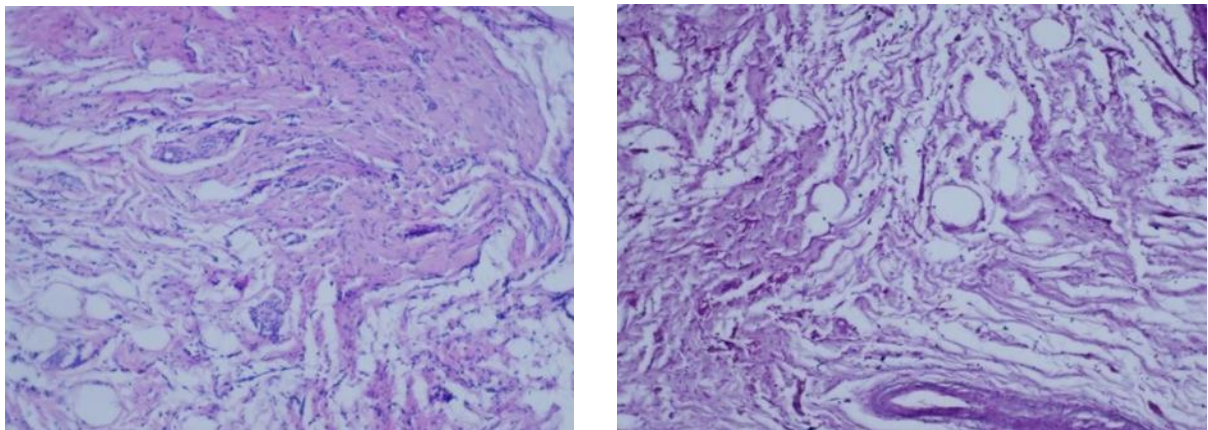
Исследование гистологических препаратов, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, выявило преобладание коллагеновых волокон и незначительное количество аргирофильных волокон (рис. 29Б, 30Б). Эластические волокна встречались ближе к краю препарата в виде скопления волокон в форме «клубка» без четко упорядоченной структуры.



А

Б

Рисунок 29 – фрагмент из области эксперимента с кровяным сгустком. А. окраска гематоксилином и эозином, х100; Б. Окраска по методу Вейгерта – Ван-Гизона, х200.



А

Б

Рисунок 30 – фрагмент из области эксперимента с кровяным сгустком. А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта – Ван-Гизона, х200.

Для выявления вида коллагена исследовали гистологические препараты окрашенные Сириусом красным (рис. 31), были обнаружены коллагеновые

волокна I и III типа, в процентном соотношении преобладал коллаген III типа (Таблица 11).

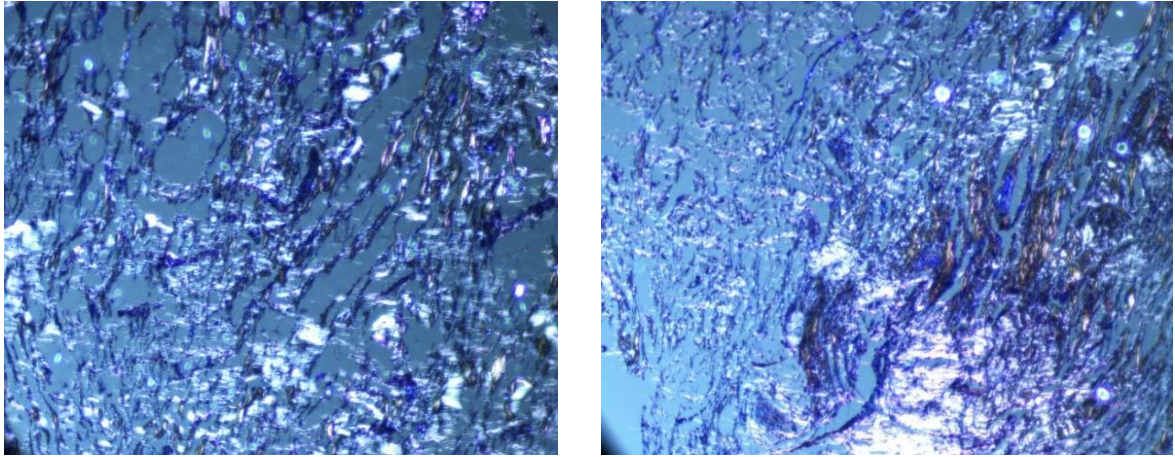


Рисунок 31 – фрагмент из области эксперимента с кровяным сгустком, окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной микроскопии, x200

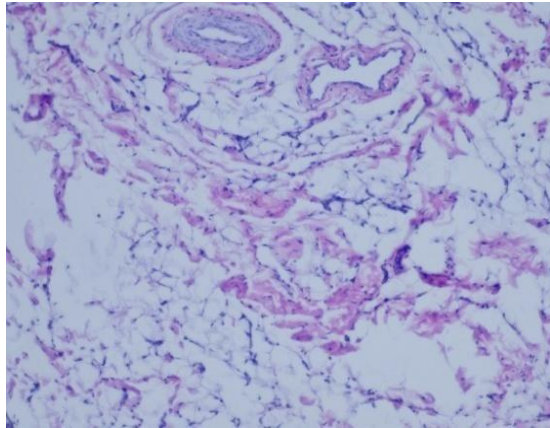
Таблица 11 – процентное соотношение типов коллагена

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	4,90	9,21	7,01
III тип	9,89	28,12	19,45

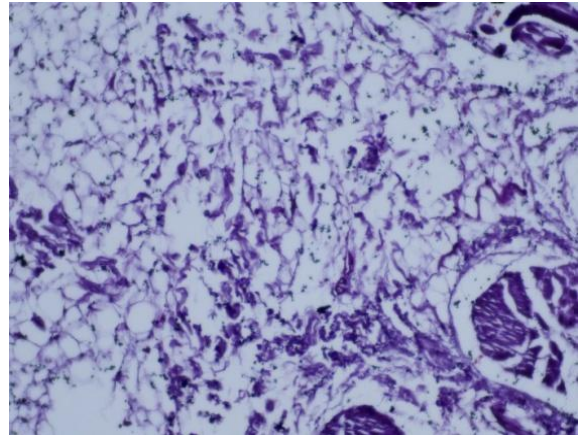
3.2.5 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. «Mucograft» K2. (I группа, 3 месяца)

При исследовании гистологических препаратов, выделенных у животных из области имплантации образцов K2, выявляются отдельные участки, напоминающие коллагеновый материал, причем, считать это следствием биodeградации не представляется возможным. Исследование гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, показало отсутствие воспалительного процесса и лейкоцитарной инфильтрации (рис. 32А, 33А). В области имплантации контрольного образца определяется плотная неоформленная соединительная ткань, также в

большем количестве определяются пучки оформленной соединительной ткани. При исследовании было также выявлено фрагменты матрикса с явлениями биоинтеграции, слабовыраженные явления биодегенерации. В области фрагментов коллагенового матрикса визуализировались крупные сформированные кровеносные сосуды.



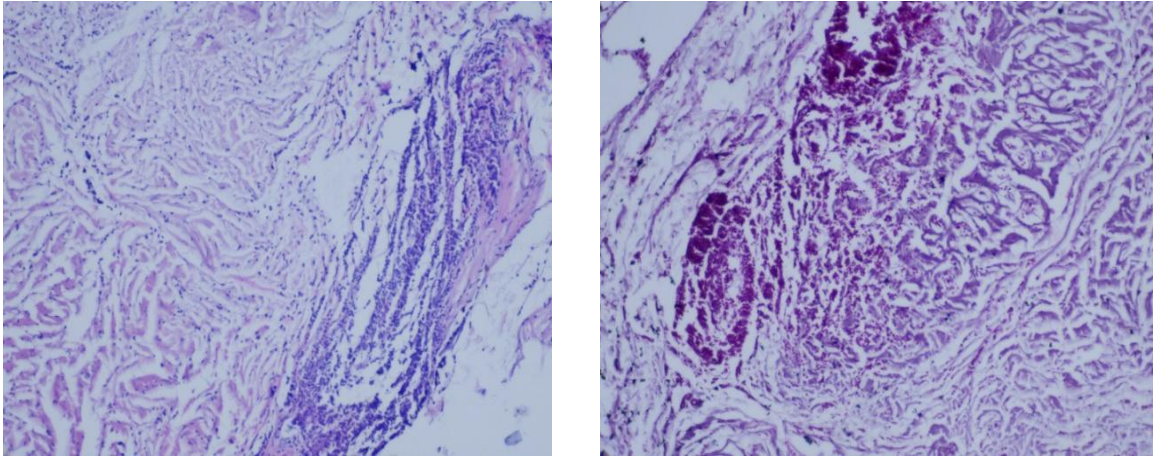
А



Б

Рисунок 32 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом «Miscograft» А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200

В препаратах, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, были обнаружены коллагеновые волокна, которых было большинство, эластические волокна определялись в близости от матрикса, аргинофильные волокна встречались в единичном количестве (рис. 32Б,33Б).



А

Б

Рисунок 33 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом «Miscograft» А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.

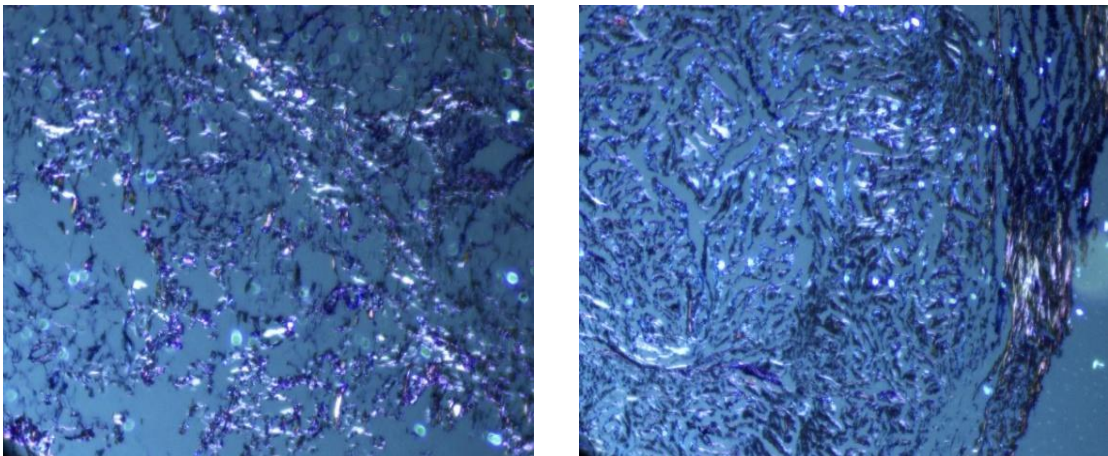


Рисунок 34 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом «Miscograft», Окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной микроскопии, х200

Для определения вида коллагена было проведено исследование гистологических препаратов окрашенных Сириусом красным (рис. 34), были обнаружены коллагеновые волокна I и III типа. Спектральное исследование

позволило получить средние величины коллагена I и III типа, данные приведены в таблице 12.

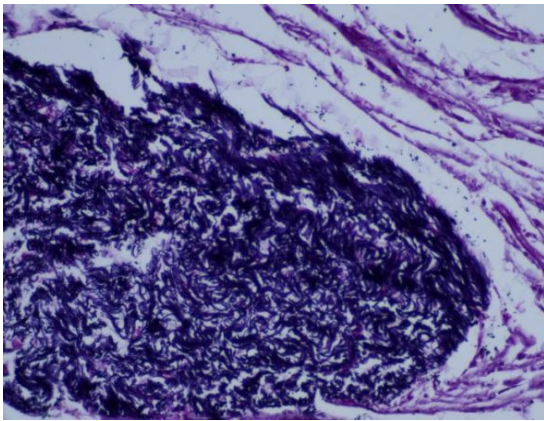
Таблица 12 – процентное соотношение типов коллагена

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	6,45	11,56	8,32
III тип	13,58	26,96	22,74

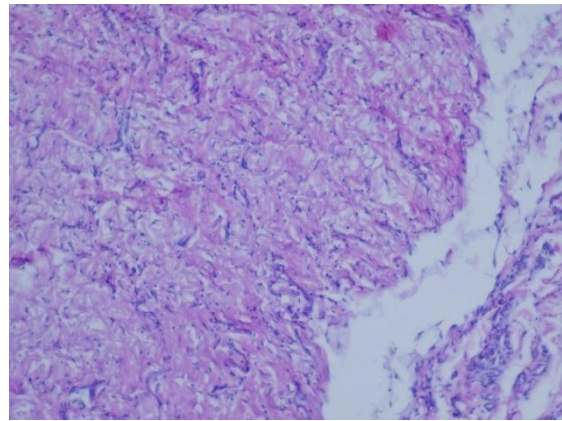
Таким образом при проведении спектрального исследования, выявили что основным типом коллагена в областях имплантации К2 , был коллаген III типа. Но в отличие от кровяного сгустка, процентное содержание коллагена I и III типов имели большие значения.

3.2.6 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Коллагеновый матрикс (О). (I группа, 3 месяца)

При исследовании гистологических препаратов, полученных у лабораторных животных из области имплантации опытного образца коллагенового матрикса (О), окрашенных гематоксилином и эозином, воспалительных явлений не было обнаружено (рис. 35А, 36А). Область имплантации представлена плотной неоформленной соединительной тканью, с большим объемом оформленной соединительной ткани, также было выявлено значительное количество фиброцитов и фибробластов. Исследование гистологического препарата определило, что процессы биоинтеграции протекали активно, на весь объем матрикса, биodeградация материала была слабо выражена. Большое количество новообразованных и сформированных кровеносных сосудов определялось в области имплантации материала, что говорит об активных процессах ангиогенеза.

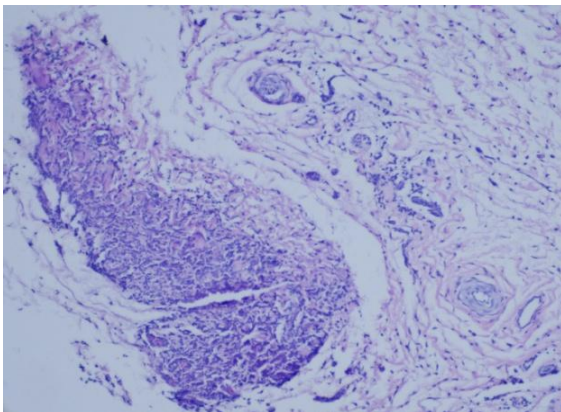


А

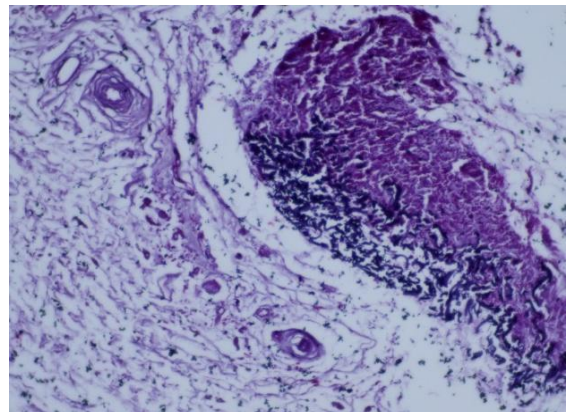


Б

Рисунок 35 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант) А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.



А



Б

Рисунок 36 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант) А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.

В препаратах, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, в большинстве были обнаружены коллагеновые волокна, аргинофильные волокна встречались в единичном количестве, эластические волокна определялись на незначительном удалении от матрикса (рис. 35Б, 36Б).

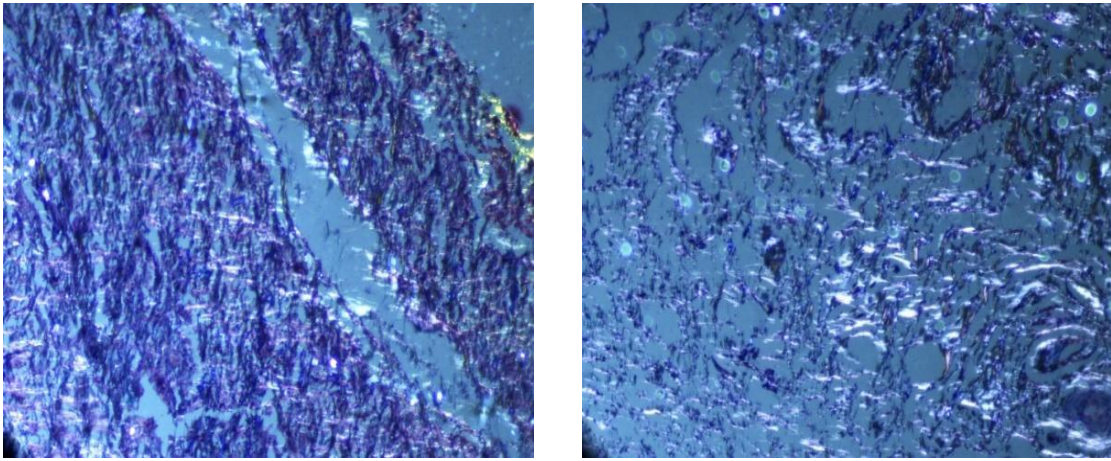


Рисунок 37 – фрагменты из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант), окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной микроскопии, x200

Было проведено исследование препаратов для определения типа (рис. 37), были обнаружены коллагеновые волокна I и III типа. Проведение спектрального исследования позволило получить средние величины коллагена I и III типа, данные приведены в таблице 13.

Таблица 13 – процентное соотношение типов коллагена

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	7,96	21,98	15,38
III тип	12,78	30,59	24,69

Исследование выявило, что III типа коллагена преобладал и был основным, в сравнении данных исследования области кровяного сгустка (K1), процентное содержание коллагена I и III типов имели большие значения.

Сравнение результатов гистологических исследований опытных образцов после трех месяцев имплантации представлено в таблице 14.

Таблица 14 - Сравнительная таблица микроскопических результатов после 3-х месяцев имплантации

Признак		Группа образцов		
		К1	К2	О
Описание соединительной ткани в зоне имплантации		Представлена оформленной соединительной тканью. Между сосудами небольшое количество лимфоцитоподобных клеток соединительной ткани, но преимущественно представлена фиброцитами.	Представлена в большей степени плотной неоформленной соединительной тканью, но имеются и пучки оформленной соединительной ткани (на незначительном удалении от мембраны).	Представлена плотной неоформленной соединительной тканью, со значительным объёмом оформленной соединительной ткани (на незначительном удалении от мембраны). Большое количество фиброцитов и фибробластов.
Биоинтеграция		-	Выявляются фрагменты материала с явлением слабой биоинтеграции на всю толщу.	В ткани выявляются фрагменты мембраны, явление биоинтеграции выраженные, на всю толщу материала.
Биодеградация		-	Процессы биодеградации выраженные, с выраженной макрофагально-лейкоцитарной реакцией.	Слабо выражена
Васкуляризация		Процессы не активные, в 1 поле зрения выявляются единичные (2-3) сформированные кровеносные сосуды.	Процессы неоангиогенеза вблизи мембраны выраженные, имеются крупные сформированные кровеносные сосуды в непосредственной близости с мембраной.	Процессы неоангиогенеза вблизи мембраны выраженные, встречаются множественные новообразованные кровеносные сосуды, а также сформированные сосуды.
Типы коллагена (средние значения,%)	I	7,01	21,87	15,38
	III	19,45	32,11	24,69

3.2.7 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Кровяной сгусток К1. (II группа, 6 месяцев)

Исследование гистологических препаратов ткани в области кровяного сгустка, окрашенных гематоксилином и эозином, свидетельствует об отсутствии воспалительных явлений и лейкоцитарной инфильтрации в области вмешательства (рис. 38А, 39А). Зона вмешательства была представлена оформленной соединительной тканью, коллагеновыми волокнами с большим количеством ретикулярных клеток и фибробластов. В поле зрения визуализировались одиночные молодые и зрелые кровеносные сосуды, что говорит о малоактивных процессах ангиогенеза.

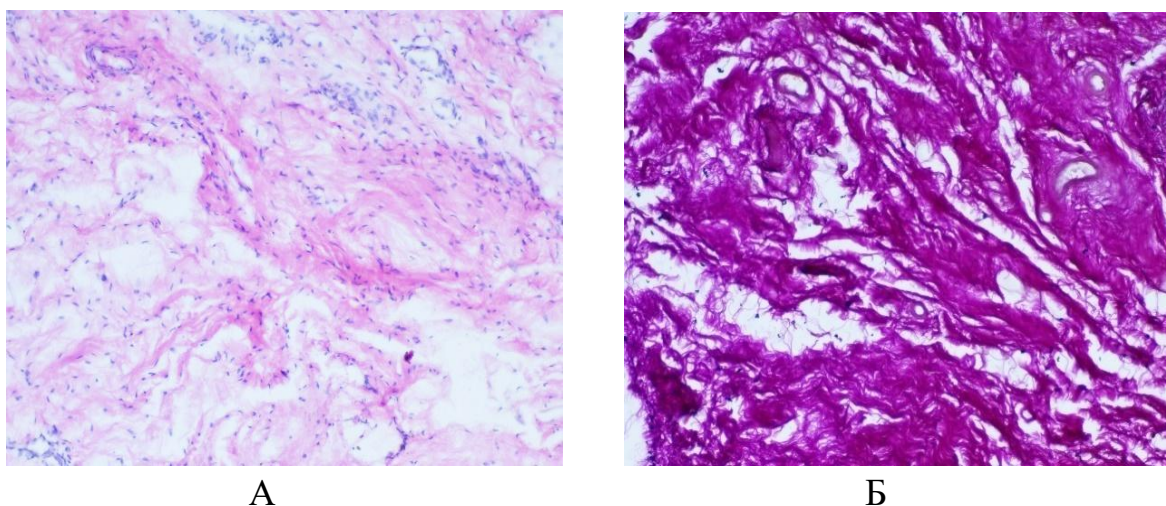
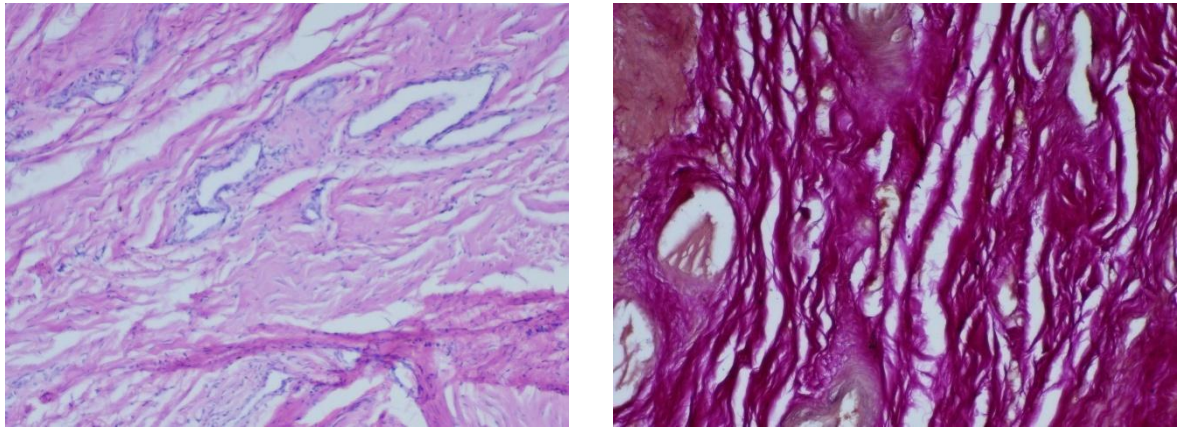


Рисунок 38 – фрагмент из области эксперимента с кровяным сгустком.

А. окраска гематоксилином и эозином, x100; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, x200.

Исследование гистологических препаратов, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, показало наличие коллагеновых и эластических волокон, которые встречались в большом количестве и были равномерно распределены (рис. 38Б, 39Б).



А

Б

Рисунок 39 – фрагмент из области эксперимента с кровяным сгустком.
 А. окраска гематоксилином и эозином, х100; Б. Окраска по методу
 Вейгерта –Ван-Гизона, х200.

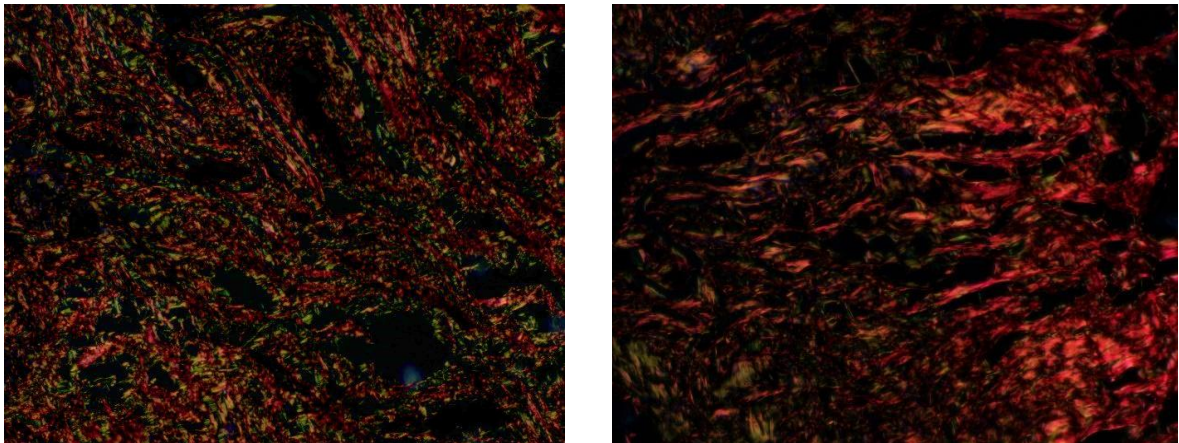


Рисунок 40 – фрагменты из области эксперимента с кровяным сгустком,
 окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной
 микроскопии, х200

Оценка гистологических препаратов, окрашенных Сириусом красным, выявила процентное соотношение коллагеновых волокон I и III типов (рис. 40), спектральное исследование с подсчетом пикселей красного цвета (I тип) и пикселей зеленого цвета (III тип), определены их средние процентные соотношения (Таблица 15).

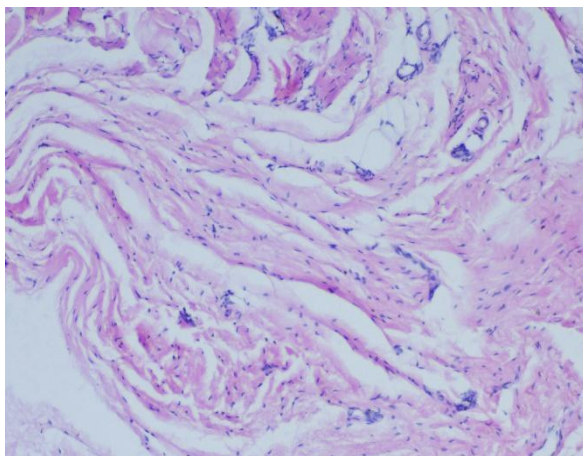
Таблица 15 – Процентное соотношение типов коллагена.

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	46,42	48,81	47,85
III тип	20,49	25,15	23,17

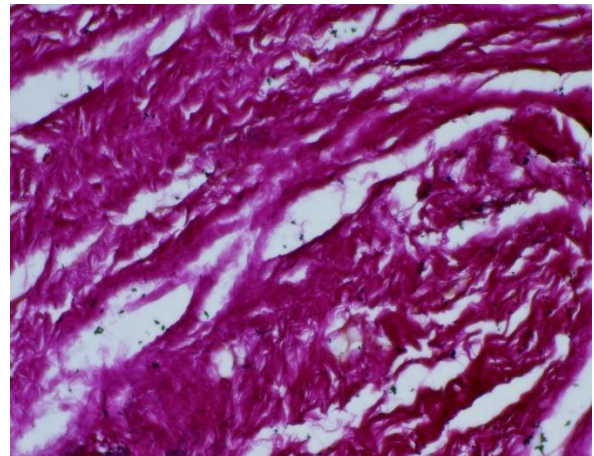
Проведенное спектральное исследование показало, что преобладающим типом у всех животных был коллаген I типа.

3.2.8 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. «Mucograft» K2. (II группа, 6 месяцев)

Исследование гистологических препаратов ткани в области имплантации контрольного образца (K2), окрашенных гематоксилином и эозином, свидетельствует об отсутствии воспалительных явлений и лейкоцитарной инфильтрации в области вмешательства (рис. 41А, 42А). В области имплантации определяются пучки оформленной соединительной ткани и фрагменты коллагенового материала, с процессами биоинтеграции и невыраженными процессами биodeградации. В поле зрения определялись групповые новообразованные кровеносные сосуды.

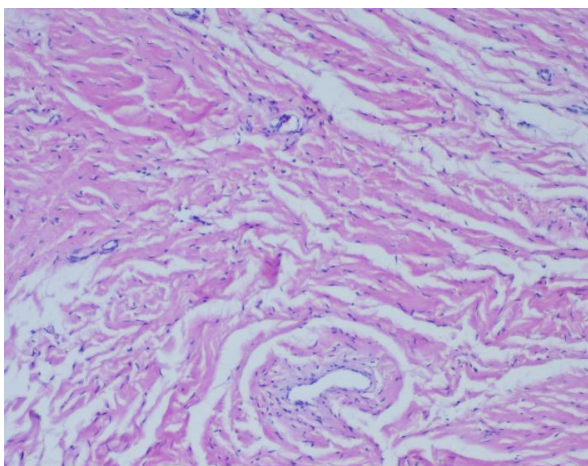


А

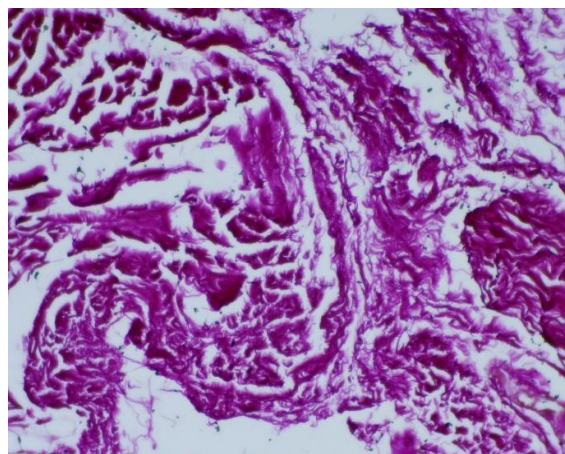


Б

Рисунок 41 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом («Mucograft») А. окраска гематоксилином и эозином, x100; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, x200.



А



Б

Рисунок 42 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом («Mucograft») А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.

Исследование препаратов, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, продемонстрировало преимущественное расположение коллагеновых волокон и отсутствие аргирофильных и эластических волокон в поле зрения (рис. 41Б, 42Б).

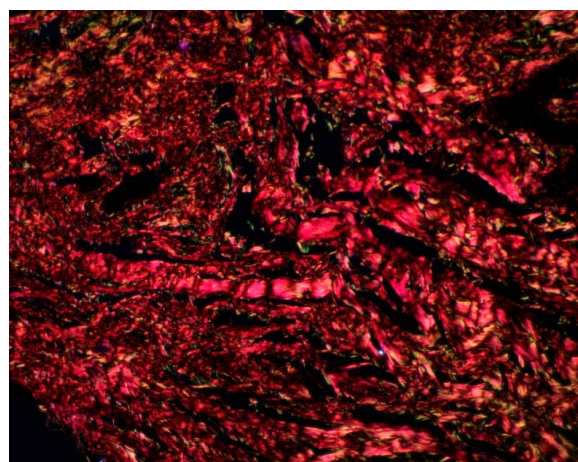
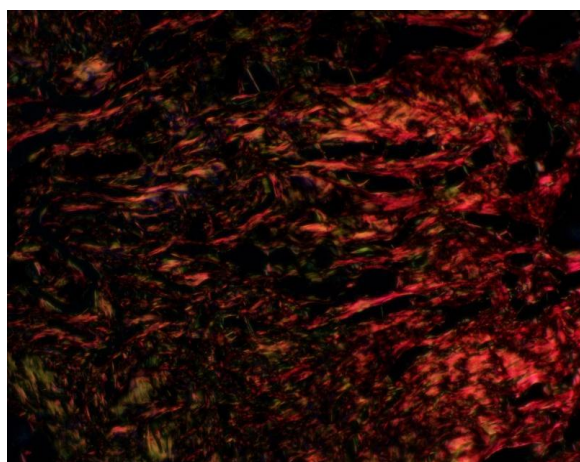


Рисунок 43 – фрагменты из области эксперимента с коллагеновым матриксом («Mucograft»), окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной микроскопии, х200

Оценка гистологических препаратов, окрашенных Сириусом красным, выявила процентное соотношение коллагеновых волокон I и III типов (рис.

43), спектральное исследование с подсчетом пикселей красного цвета (I тип) и пикселей зеленого цвета (III тип), определены их средние процентные соотношения (Таблица 16).

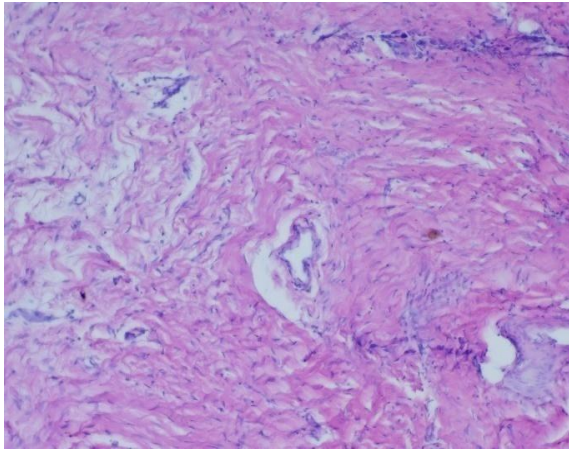
Таблица 16 – Процентное соотношение типов коллагена.

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	51,42	56,28	53,45
III тип	34,34	35,84	35,12

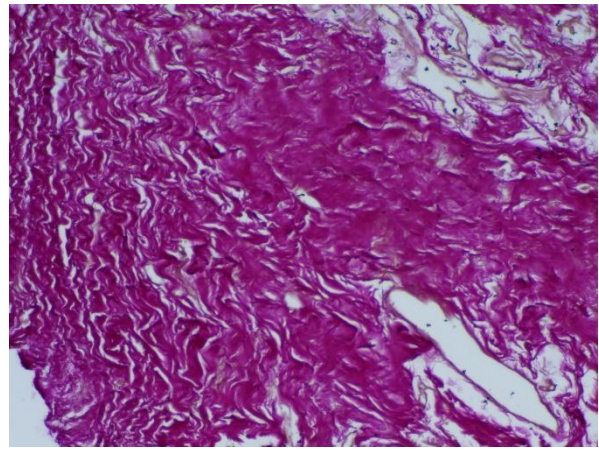
При исследовании коллагена было выявлено, что основным типом коллагена был коллаген I типа. В отличие от кровяного сгустка, процентное содержание коллагена I и III типов имеют большие значения.

3.2.9 Гистологическая характеристика тканей в области ортотопической имплантации. Коллагеновый матрикс (O). (II группа, 6 месяцев)

При исследовании гистологических препаратов, полученных у лабораторных животных из области имплантации опытного образца коллагенового матрикса (O), окрашенных гематоксилином и эозином, воспалительных явлений не было обнаружено (рис. 44А, 45А). Зона имплантации была представлена оформленной соединительной тканью с большим содержанием ретикулярных клеток и фибробластов. В поле зрения определяются одиночные зрелые и новообразованные кровеносные сосуды, что говорит о слабых процессах ангиогенеза. Между сосудами визуализируются недифференцированные лимфоцитоподобные клетки.

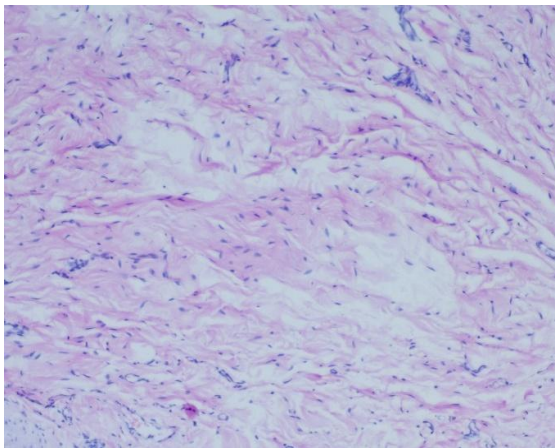


А

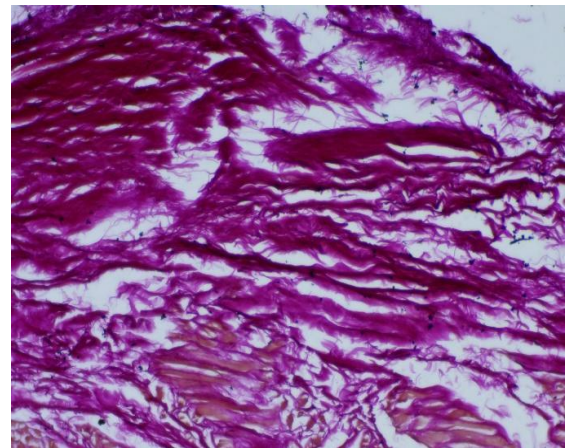


Б

Рисунок 44 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант) А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.



А



Б

Рисунок 45 – фрагмент из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант). А. окраска гематоксилином и эозином, х200; Б. Окраска по методу Вейгерта –Ван-Гизона, х200.

При проведении исследование препаратов, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона, было определено преимущественное расположение коллагеновых и эластических волокон, последние встречались по всей поверхности образца (рис. 44Б, 45Б).

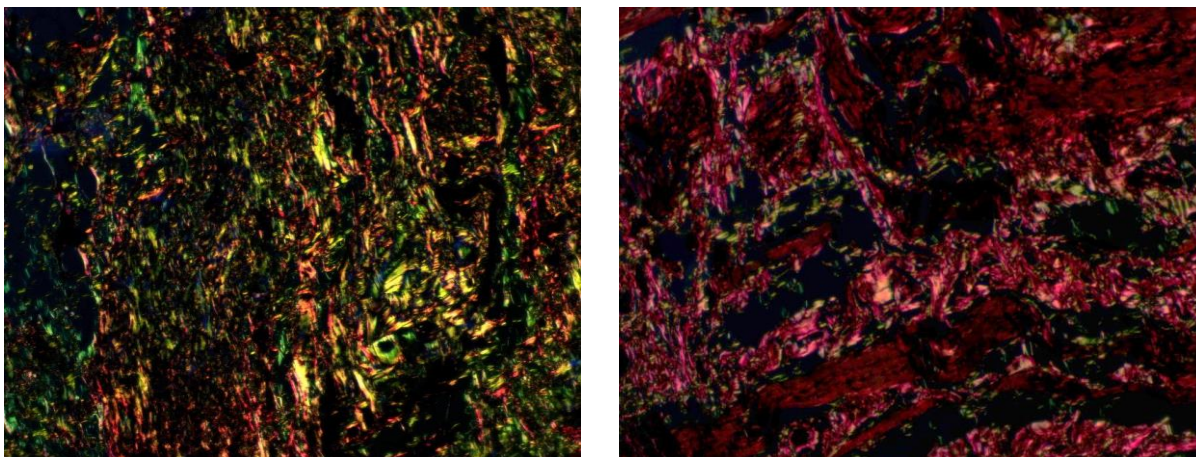


Рисунок 46 – фрагменты из области эксперимента с коллагеновым матриксом (Кардиоплант), окраска Сириусом красным, при проведении поляризационной микроскопии, x200

Исследование гистологических препаратов, окрашенных Сириусом красным, выявило процентное соотношение коллагеновых волокон I и III типов (рис. 46), спектральное исследования с подсчетом пикселей красного цвета (I тип) и пикселей зеленого цвета (III тип), определены их средние процентные соотношения (Таблица 17).

Таблица 17 – Процентное соотношение типов коллагена.

Тип коллагена	Min, %	Max, %	Среднее значение, %
I тип	41,25	47,75	44,63
III тип	30,79	35,05	32,57

Спектральное исследование типов коллагена показало, что основным был коллаген I типа.

Сравнение результатов гистологических исследований опытных образцов после шести месяцев имплантации представлено в таблице 18.

На основании гистологических результатов имплантации отечественного коллагенового матрикса можно сделать вывод, что

эффективность матрикса при ортотопической модели имплантации такая же, как и у образцов контрольной группы коллагенового матрикса «Mucograft». Области имплантации были представлены преимущественно оформленной соединительной тканью, без признаков воспаления, также определялись множественные новообразованные сосуды в области имплантации. Полученные данные дали основание к проведению клинических испытаний отечественного коллагенового матрикса.

Таблица 18 – Сравнительная таблица микроскопических результатов после 6-х месяцев имплантации

Признак	Группа образцов			
	К1	К2	О	
Описание соединительной ткани в зоне имплантации	Соединительная ткань в области эксперимента у всех животных представлена коллагеновыми волокнами, с высоким содержанием ретикулярных клеток и фибробластов. На большей части исследуемых фрагментов имеется оформленная соединительная ткань. Между сосудами имеются недифференцированные лимфоцитоподобные клетки соединительной ткани. Оценка препаратов, окрашенных по методу Вейгерта-Ван-Гизона выявила, преимущественное расположение коллагеновых волокон. Эластические волокна встречались равномерно на всех фрагментах образцов	Соединительная ткань представлена преимущественно пучками оформленной соединительной ткани.	Соединительная ткань представлена коллагеновыми волокнами с большим содержанием ретикулярных клеток и фибробластов. На большей части исследуемых фрагментов имеется оформленная соединительная ткань.	
Биоинтеграция	-	В образцах выявляются фрагменты матрикса, с явлением биоинтеграции на всю толщу.	Между сосудами имеются недифференцированные лимфоцитоподобные клетки соединительной ткани.	
Биодеградация	-	Процессы биодеградации слабо выражены.	Процессы биодеградации слабо выражены.	
Васкуляризация	Процессы неоангиогенеза слабые, в 1 поле зрения выявляются единичные (1-2) новообразованные и 2-3 сформированные кровеносные сосуды	Процессы неоангиогенеза вблизи матрикса средне выраженные, встречаются групповые новообразованные кровеносные сосуды.	Процессы неоангиогенеза слабо выраженные, в 1 поле зрения встречаются групповые новообразованные и 2-3 сформированные кровеносные сосуды.	
Типы коллагена (средние значения, %)	I	47,85	53,45	44,63
	III	23,17	35,12	32,57

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Результаты анализа показателей болевого синдрома

Проанализированные анкеты интенсивности болевого синдрома на 7 сутки после операционного вмешательства пациентов I группы, где для пластики мягких тканей использовали ССТ, показали следующие результаты – 5.9 ± 1.21 баллов, во II группе, где был применен отечественный коллагеновый матрикс, 3.06 ± 0.97 баллов, что соответствует результатам «сильная боль» и «умеренная боль» соответственно. На 14 сутки обе группы пациентов отмечали значительное снижение интенсивности болевых ощущений, средние значения в I группе составили 1.4 ± 0.74 баллов, во II группе 1.25 ± 0.77 баллов, что в обоих случаях соответствует результату «слабая боль», и свидетельствует, что пациенты испытывали незначительный дискомфорт. На 30 сутки пациенты обеих групп не отмечали болевых ощущений (рис.47).

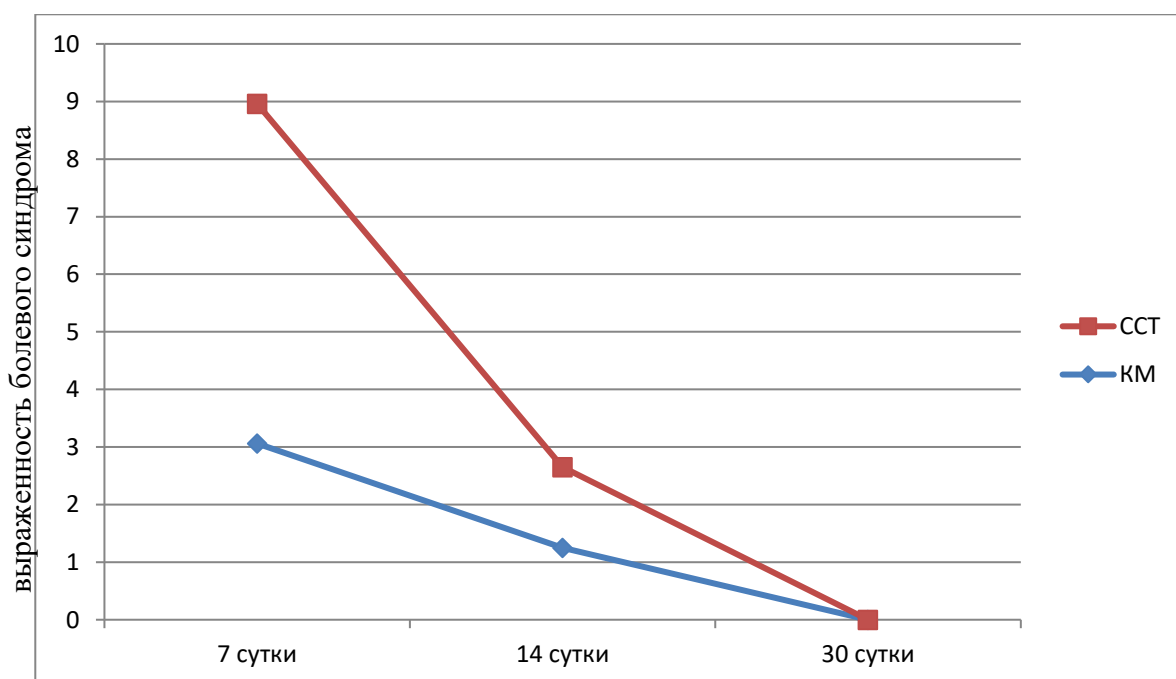


Рисунок 47 – оценка интенсивности болевого синдрома

4.2 Результаты оценки качества жизни пациентов

Из проведенного анализа данных, полученных при анкетировании

пациентов перед операционным вмешательством, следует, что обе группы пациентов не отмечали значительного снижения качества жизни, связанного с проблемами полостью рта, среднее значение показателей практически не отличались и составили 1.8 ± 0.62 в I группе, и 1.55 ± 0.54 во II группе.

На 7 сутки после операционного вмешательства качество жизни пациентов в обеих группах значительно снизилось, что напрямую связано с проведенными хирургическими вмешательствами, за которыми последовали стандартная триада симптомов: умеренные боли и отек в области операции, субфебрильная температура. У пациентов I группы наблюдалось более выраженное снижение показателей качества жизни в сравнении со II группой. Среднее значение показателей в I группе составило 45 ± 3.94 , во II группе 28 ± 2.2 , что говорит о том, что пациенты I группы испытывали больший дискомфорт и проблемы, связанные с полостью рта и зубами, что, возможно, было связано с созданием донорской зон для забора ССТ.

На 14 сутки показатели оценки качества жизни пациентов в обеих группах несколько улучшились в сравнении с результатами анкетирования на 7 сутки, что, возможно, связано с уменьшением отеков и болевого синдрома. Показатели в I группе, где применялся ССТ, и II группы, где использовали коллагеновый матрикс, составили 21.8 ± 2.37 и 13.9 ± 1.47 соответственно.

На 60 сутки в I и во II группах были следующие результаты показатели качества жизни пациентов 5.9 ± 1.6 и 2.58 ± 1.11 соответственно. Полученные значения могут говорить о том, что пациенты I группы, где поводился забор ССТ, возможно, испытывали больший стресс во время реабилитационного периода, связанного с дискомфортом и болезненностью, что снизило показатели качества жизни пациентов (рис.48).

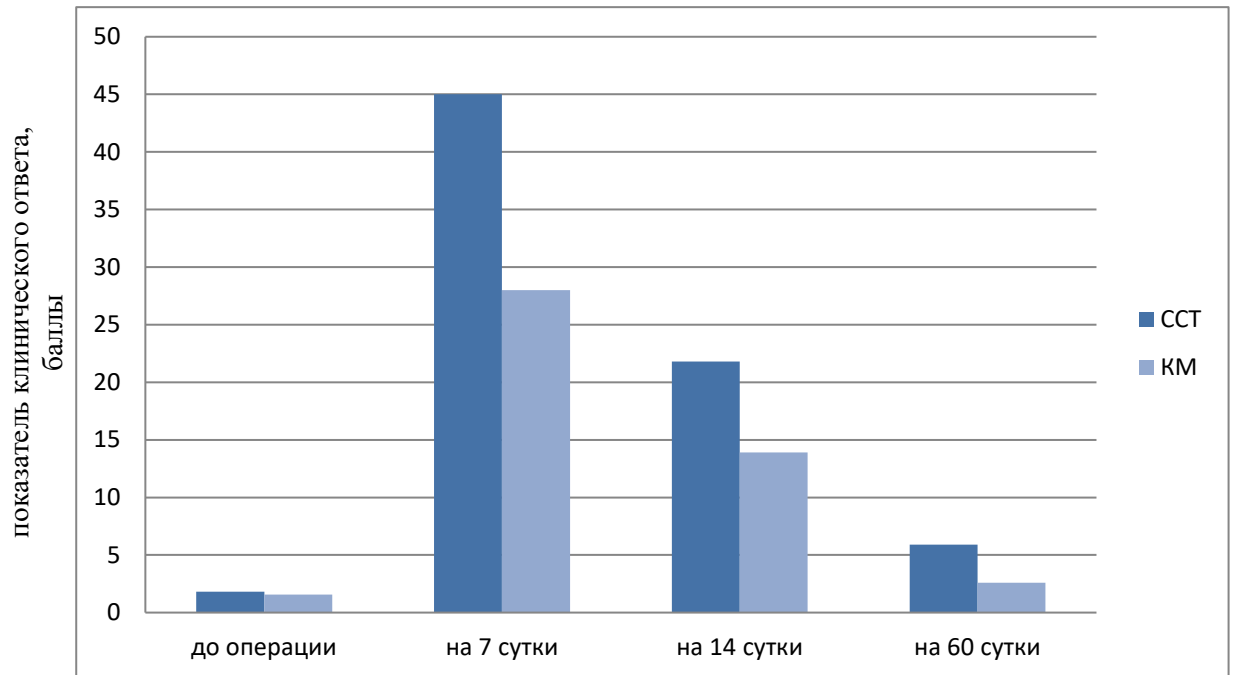


Рисунок 48 – показатель качества жизни на 7 сутки после хирургического вмешательства

При сравнении результатов опроса пациентов обеих групп можно сделать вывод, что снижение качества жизни пациентов в I группе, где применялся ССТ, связано с формированием второй хирургической зоны вмешательства в области мягких тканей твёрдого неба и бугра верхней челюсти, которая отсутствовала во II группе.

4.3 Клинические исследования трехмерного коллагенового матрикса «FibroMATRIX»

Для применения отечественного коллагенового матрикса в клинической практике необходимо было получить регистрационное удостоверение. С этой целью результаты доклинических исследований были переданы индустриальному партнеру ООО «Кардиоплант» для получения разрешения на проведения клинических испытаний коллагенового матрикса, которые проводились в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

После завершения клинических исследований на материал было получено регистрационное удостоверение и материалу было присвоено коммерческое название 3D-матрикс коллагеновый «FibroMATRIX» (рис.49).



Рисунок 49 – регистрационное удостоверение на медицинское изделие

4.4 Оценка результатов проведенных операций по увеличению объема прикрепленной десны

Для точного сравнения и оценки эффективности результатов увеличения объема прикрепленной десны использовалось внутриротовое сканирование, с помощью которого проводилось измерение толщины прикрепленной десны исходной и конечной ситуаций.

Методика измерения толщины сканирования заключалась в следующем: перед проведением операции пациентам проводили внутриротовое сканирование и КЛКТ (выступает в качестве реперного объекта для сопоставления сканов), далее в программе планировщике Blue Sky Bio проводили сопоставление данных файлов STL с DCM, после чего

проект сохранялся. По окончании хирургического этапа лечения пациентам всех групп проводили повторное внутривисочное сканирование, STL файлы которого совмещали с ранее созданными цифровыми проектами пациентов. При наложении сканов друг на друга можно было визуализировалась результаты проведенных мягкотканых аугментаций за счет сравнения границ сканов в области хирургического вмешательства.

В качестве демонстрации метода измерения объема мягких тканей в области мягкотканной пластики приводим следующий случай: на рисунке 50

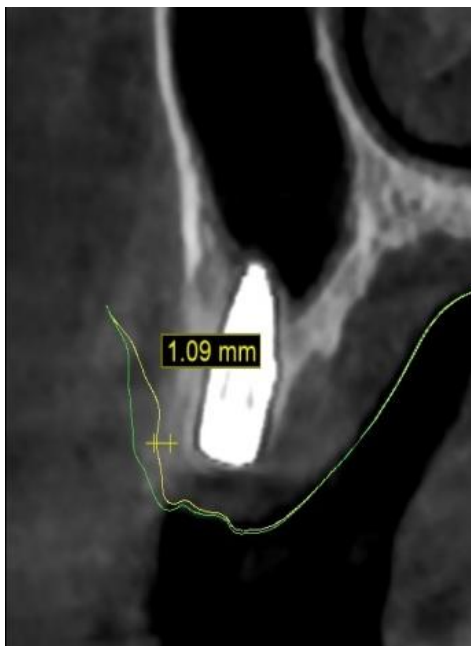


Рисунок 50 – толщина слизистой до проведения мягкотканной пластики



Рисунок 51 – толщина слизистой спустя 1.5 месяца после проведения мягкотканной пластики

желтым цветом обозначены границы слизистой до проведения операции по увеличению объема прикреплённой слизистой с помощью коллагенового матрикса «FibroMATRIX». Толщина мягких тканей составляет 1,09 мм. На рисунке 51 зеленым цветом представлена граница слизистой в области имплантата после проведения операции по увеличению объёма мягких тканей, толщина мягких тканей составила 2,32 мм.

Оценку изменения объема прикреплённой десны проводили спустя 1.5 и 3 месяца после проведения хирургического вмешательства. У пациентов

обеих групп средние значения толщины прикрепленной десны в области предполагаемой мягкотканной пластики составляли $1,27 \pm 0,65$ мм.

Данные, полученные при измерении толщины десны спустя 1.5 месяца, в группе пациентов, в которой применялся коллагеновый матрикс «FibroMATRIX» показали, что в среднем объем мягких тканей в области имплантации матрикса увеличился на $1,4 \pm 0,87$ мм. Средний прирост мягких тканей в области дефицита объема прикрепленной десны у пациентов, где применялся ССТ, составил $1,7 \pm 0,64$ мм (Таблица 19).

Таблица 19 – Показатели изменения объема прикрепленной десны (мм) через 1.5 месяца

Группы	Средняя толщина прикрепленной десны	
	Изначально	Спустя 1.5 месяца
I группа (ССТ)	$1,31 \pm 0,65$	$3,1 \pm 0,23$
II группа (КМ)	$1,31 \pm 0,65$	$2,8 \pm 0,56$

Повторное измерение толщины прикрепленной десны проводили спустя 3 месяца. Средние значения прироста толщины мягких тканей полости рта составили $1,3 \pm 0,85$ мм и $1,2 \pm 0,57$ мм для I и II групп соответственно (Таблица 20).

Таблица 20 – Показатели изменения объема прикрепленной десны (мм) через 3 месяца

Группы	Средняя толщина прикрепленной десны	
	Изначально	Спустя 3 месяца
I группа (ССТ)	1,31±0,65	2,7±0,51
II группа (КМ)	1,31±0,65	2,4±0,44

При проведении анализа данных, полученных при измерении объема прикрепленной десны, статистически значимое увеличение объема в обеих группах наблюдалось у пациентов в возрасте от 42 до 72 лет (рис.52).

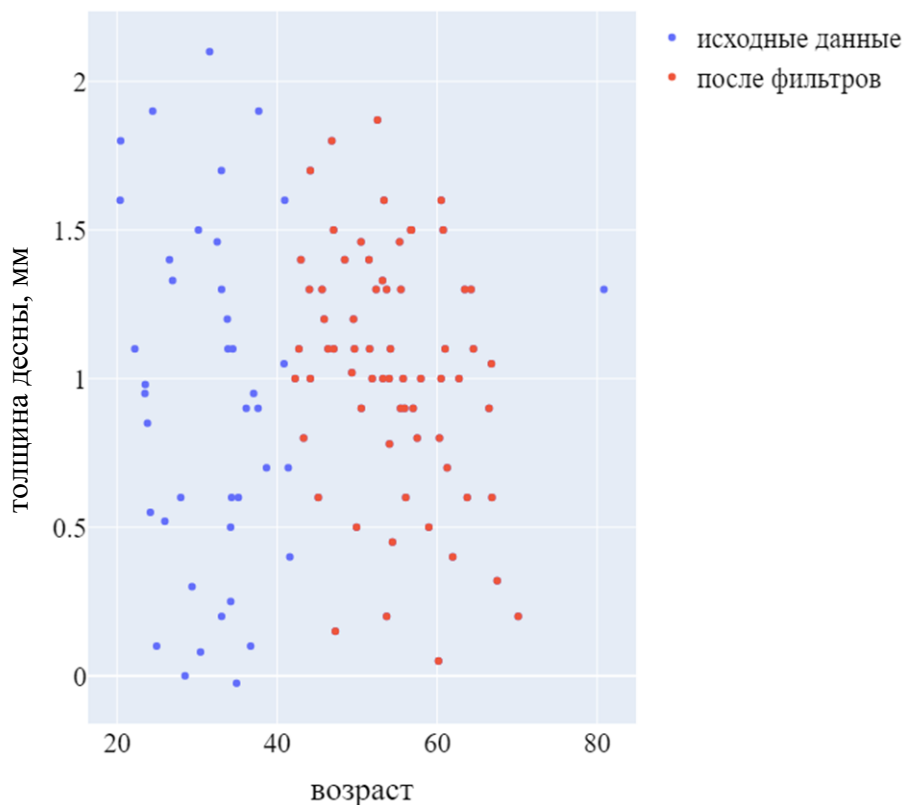


Рисунок 52 – изменение объема мягких тканей, критерий: корреляция Пирсона, p Value= 0.012, $corr$ = -0.307

Также анализ данных показал статистически значимое увеличение объема прикрепленной десны у пациентов II группы (КМ) в возрасте от 26 до 42 лет (рис.53).

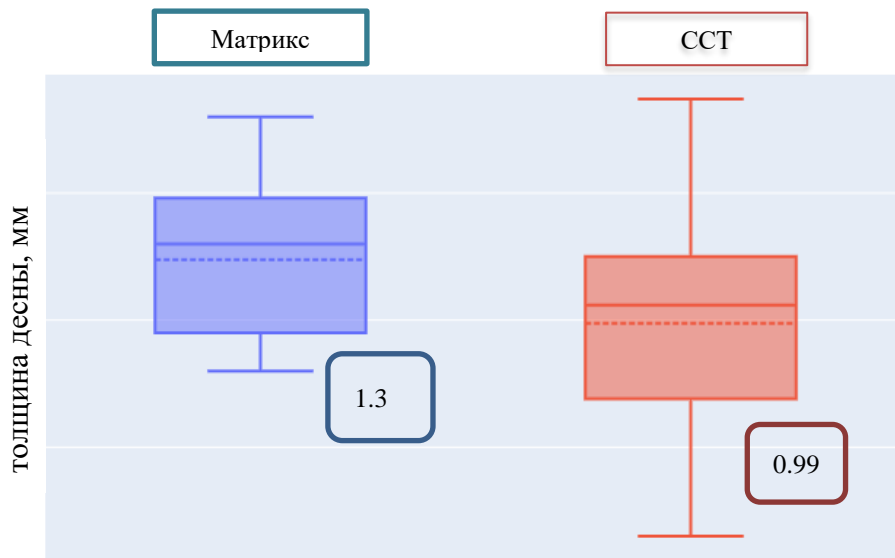


Рисунок 53 – изменение объема мягких тканей. p Value= 0.023, Критерий: Т-критерий Стьюдента.

Сравнение полученных данных двух групп свидетельствует, что применение коллагенового матрикса «FibroMATRIX» в качестве метода увеличения объема прикрепленной десны демонстрирует схожие результаты прироста объёма мягких тканей полости рта с методом использования аутогенных трансплантатов, а именно свободного соединительнотканного трансплантата.

4.5 Результаты проведенных операций по увеличению объема мягких тканей полости рта с использованием трехмерного коллагенового матрикса «FibroMATRIX» и ССТ

В качестве примеров результатов операций по увеличению объема мягких тканей полости рта приводим следующие клинические случаи.

Клинический случай 1.

В клинику обратился пациент П., 38 лет с жалобами на потерю центрального резца верхней челюсти (рис.54). Потеря зуба произошла в результате осложненных форм кариеса. При осмотре: на верхней челюсти включенный дефект во фронтальном отделе – отсутствует зуб 2.1. При

исследовании альвеолярного отростка выявлена его атрофия в области отсутствующего зуба 2.1 I степени, дефицит слизистой. Диагноз: частичная потеря зубов, включенный дефект во фронтальном отделе слева.



Рисунок 54 – дефицит объема слизистой в области ограниченного дефекта верхней челюсти слева

Определен следующий план лечения, который включал в себя установку имплантата в зону отсутствующего зуба 2.1, проведение направленной костной регенерации, имплантация коллагенового матрикса (рис.55).

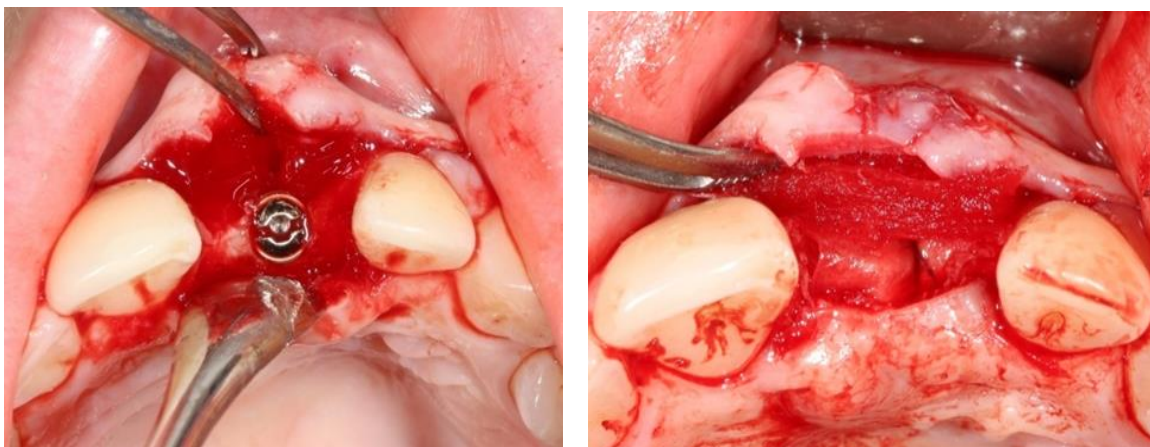


Рисунок 55 – этапы операции

Был сформирован разрез по вершине гребня, слизисто-надкостничный лоскут расщеплен и сформирован карман, в который был имплантирован коллагеновый матрикс, зафиксированный П-образными резорбируемыми швами. Рана ушита нерезорбируемыми швами. После операции даны стандартные рекомендации. Снятие швов через 10 дней и окончательный вид постоянной коронки (рис.56, 57).

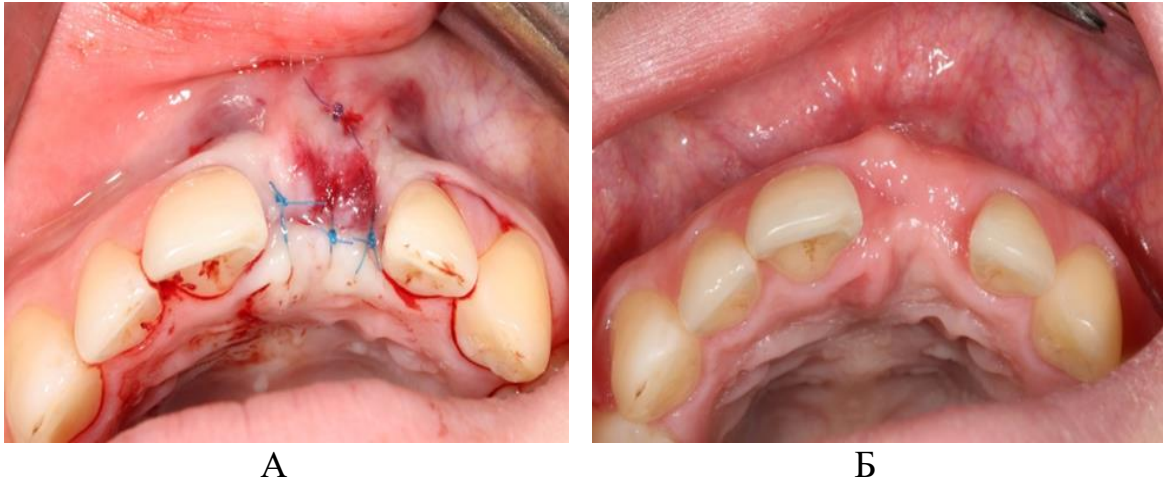


Рисунок 56 – результаты: А. ушитая десна; Б. вид сформированной десны через 5 месяцев.



Клинический случай 2.

Пациент О., 58 лет обратился в клинику с жалобами на отсутствие зуба 1.2, эстетический дефект. Было принято решение об установке дентального имплантата с проведением операции по увлечению объема прикрепленной десны с помощью коллагенового матрикса «FibroMATRIX» (рис.58).

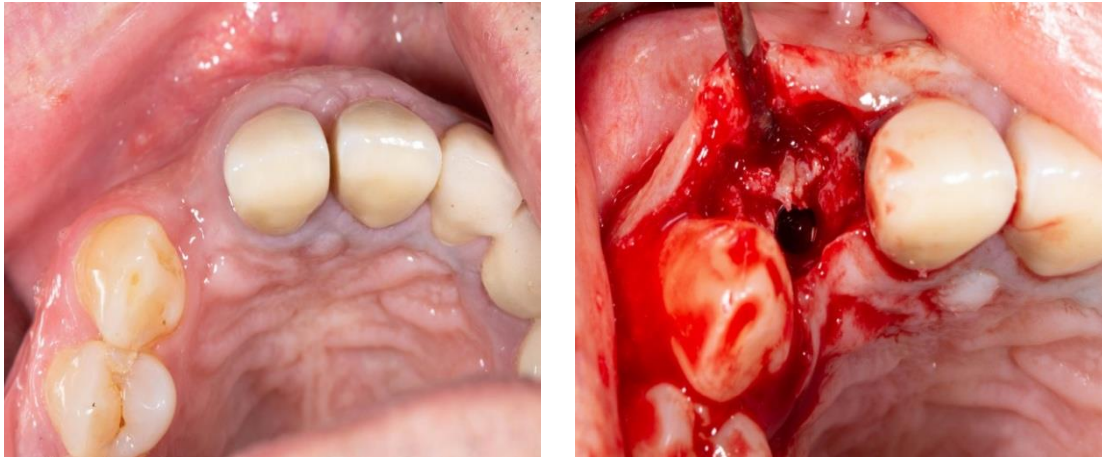


Рисунок 58 – вид изначальной ситуации и на момент отслойки
слизисто-надкостничного лоскута

Коллагеновый матрикс был уложен в сформированный карман и зафиксирован П-образными швами резорбируемым шовным материалом (рис. 59,60).

Швы сняли через 10 дней. Вид в полости рта после окончания этапа протезирования (рис.61).

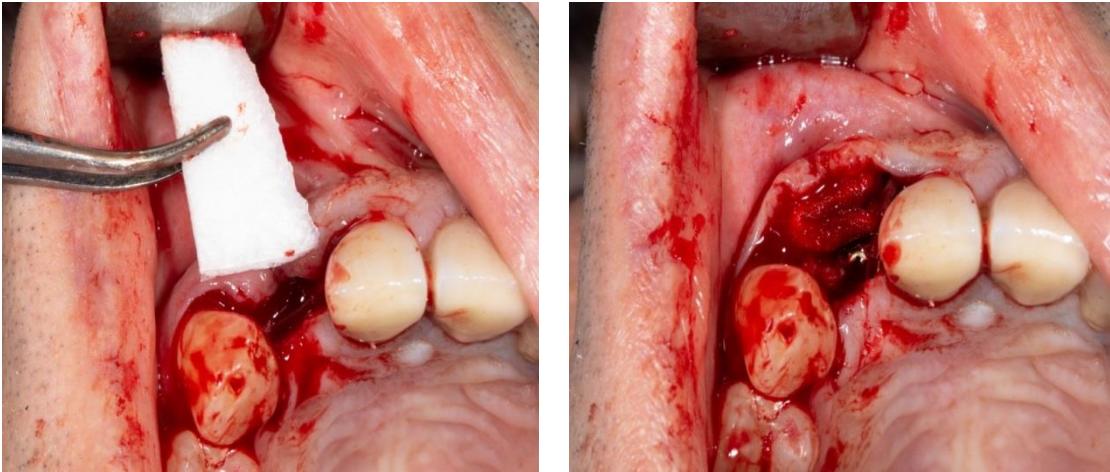


Рисунок 59 – имплантация коллагенового матрикса

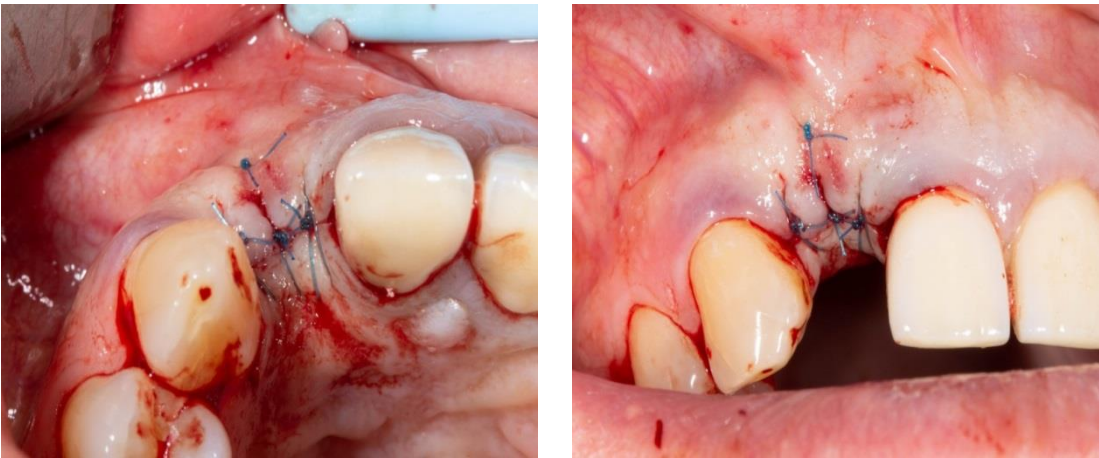


Рисунок 60 – вид ушитой раны



Рисунок 61 –этап окончания постоянного протезирования

Клинический случай 3.

Пациент Г., 54 года, была направлена врачом-стоматологом ортопедом на плановое удаление зуба 1.2 (рис.62).



Рисунок 62 – вид изначальной ситуации



Рисунок 63 – этап удаления

Под инфильтрационной анестезией была проведена экстракция зуба 1.2, кюретаж лунки, наложение швов (рис.63).

Пациент была назначена на плановой осмотр через 2 месяца, после которого был установлен дентальный имплантат в область отсутствующего зуба 1.2 (рис.64).



Рисунок 64 – вид установленного имплантата

На контрольном осмотре был обнаружен дефицит объема слизистой в области установленного имплантата (рис.65). Было принято решение о проведении мягкой тканевой пластики с применением свободного соединительно-тканного трансплантата (рис.66).



Рисунок 65 – дефицит объема слизистой в области имплантата в зоне 1.2

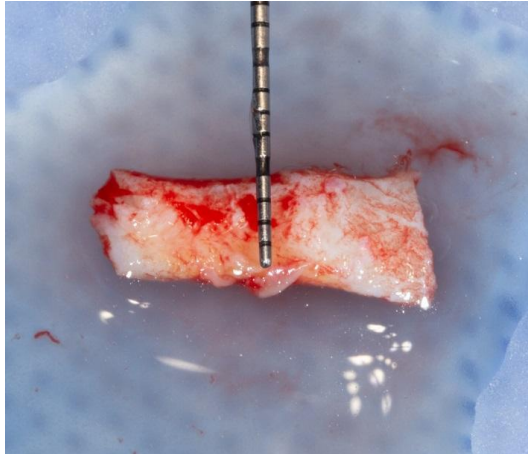


Рисунок 66 – свободный соединительно-тканый трансплантат

Полученный трансплантат был деэпителизирован и зафиксирован в сформированный карман в область дефицита слизистой (рис.67).

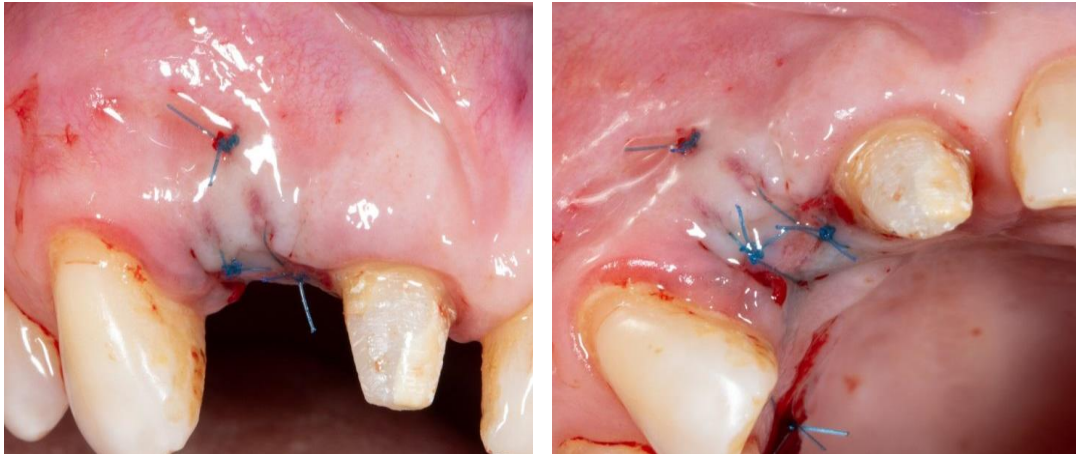


Рисунок 67 – вид ушитого разреза и зафиксированного ССТ

Рана ушита нерезорбируемыми швами. После операции даны стандартные рекомендации. Снятие швов через 10 дней. Пациент находится на этапе подготовки к временному протезированию (рис.68).



Рисунок 68 – вид слизистой спустя 1.5 месяца, перед открытием имплантата

Клинический случай 4.

Пациент Т. 52 года после проведенной НРКТ в области зубов 1.1 и 1.2 был на осмотре врача-стоматолога ортопеда. Был определен дефицит объема слизистой в области отсутствующих зубов. Было решено провести операцию по увеличению объема слизистой, используя ССТ (рис.69).



Рисунок 69 – исходная ситуация

Проведен забор трансплантата из зоны твердого неба. Трансплантат деэпителизирован (рис.70,71).

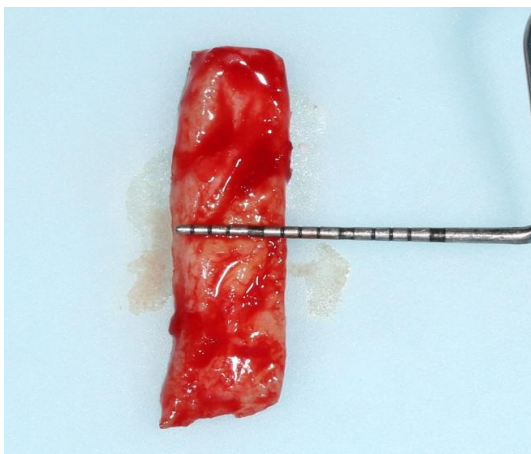


Рисунок 70 – вид трансплантата

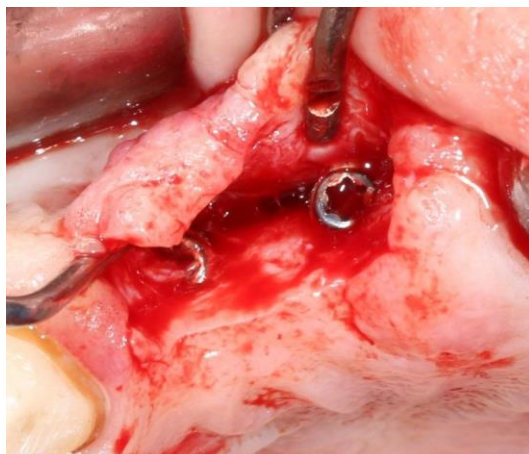


Рисунок 71 – сформированный разрез по вершине альвеолярного отростка

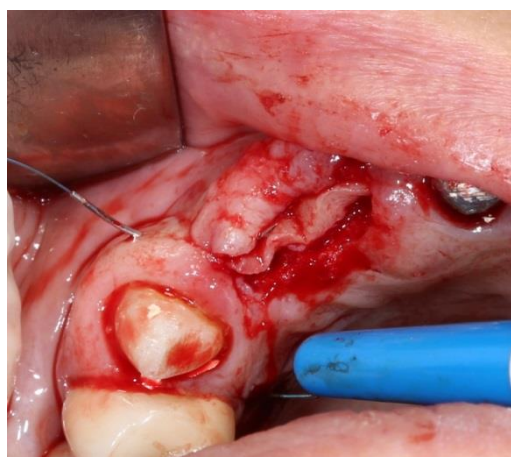


Рисунок 72 – хирургический этап



Рисунок 73 – вид со швами

Трансплантат зафиксирован вестибулярно П-образными швами с помощью резорбируемого шовного материала (рис.72,73). Рана ушита нерезорбируемыми швами. После операции даны стандартные рекомендации. Снятие швов через 10 дней.

Этап установки формирователей десны (рис.74). Вид в полости рта после окончания этапа протезирования (рис.75).



Рисунок 74 – вид слизистой с установленными формирова­телями десны



Рисунок 75 – на этапе постоянного протезирования

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

На сегодняшний день наличие локализованного дефицита мягких тканей в области отсутствующих зубов значительно осложняет эстетическую реабилитацию пациентов. Сложные удаления зубов, травмы, осложнения после проведения НРКТ - все эти факторы, так или иначе, усложняют лечение, установку имплантатов, и самое главное восстановление контура и объема мягких тканей в эстетически значимой области. Это приводит к изменению формы десневых сосочков, рубцовых изменений слизистой, образованию «черного треугольника» в межзубных промежутках.

Традиционные методы восстановления дефицита слизистой полости рта включают в себя применение «розовой» керамики в ортопедических конструкциях и использование аутоканей самого пациента. Эти протезные решения приемлемы с функциональной точки зрения, но никак с точки зрения эстетики и реализма, особенно в тех случаях, когда пациент улыбается. Что же касается применения собственных тканей пациентов для устранения эстетических дефектов, то здесь обратной стороной стабильного, высокоэстетичного результата является развитие послеоперационных кровотечений, удлинение реабилитационного периода, и эти факторы могут стать решающими для выбора пациента. По этой причине хирургические методы устранения дефектов в зоне мягких тканей полости рта представляют большой клинический интерес.

В последние десятилетия современная хирургическая пародонтология проявляет большой интерес к ксеногенным материалам, которые применяются в стоматологической хирургии. Поэтому исследование и разработка этих материалов не прекращается и по сей день. Целью нашего исследования явилось разработка и внедрение в клиническую практику отечественного коллагенового матрикса для увеличения объема прикрепленной десны и повышения эффективности лечения пациентов с дефицитом мягких тканей полости рта.

Научно-исследовательская работа включала в себя два этапа: лабораторный, то есть доклинический, и непосредственно клинический.

In vitro

На первых этапах научно-исследовательской работы были созданы клеточные тест-системы на основе мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека и диплоидных фибробластов. На клеточных тест-системах *in vitro* исследовали цитотоксичность, и биосовместимость коллагеновых материалов. А также была исследована динамика численности клеточных популяций, их пролиферативная активность, спустя 48 и 72 часа. Оценка полученных результатов исследований *in vitro* позволяет сделать выводы, что опытные образцы коллагеновых матриксов производства ООО «Кардиоплант» не имели токсического воздействия на клеточные культуры, митотическая активность клеток не подавлялась спустя 48 и 72 часа после культивирования, а исследование динамики численности клеточных популяций показало значительный прирост клеток на опытных образцах. Полученные результаты *in vitro* дали нам возможность продолжить доклинические исследования и перенести их на модель *in vivo*.

In vivo

В исследованиях *in vivo* исследовались свойства, безопасность и эффективность коллагеновых матриксов. Этот ряд исследований было решено провести в два этапа: это проведение операций на гетеротопической и ортотопической моделях имплантаций на мелких и крупных лабораторных животных соответственно.

Гетеротопическая модель включала в себя имплантацию двух материалов: коллагенового матрикса производства «Кардиоплант» и резорбируемой коллагеновой мембраны производства «Кардиоплант». Имплантацию проводили четырем самцам белых крыс, животных содержали в стандартных условиях вивария. Образцы имплантировали в карманы, сформированные вдоль средней линии спины.

После выведения животных и эксперимента полученные образцы подвергались макроскопическому и гистологическому исследованию.

Внешний осмотр, полученных образцов всех животных, показал отсутствие воспалительной реакции. Гистологическое исследование опытных образцов группы показало биоинтеграцию и биодеградацию материалов на всю толщину всех животных. Также хорошо определялись новообразованные сосуды. Исследование образцов контрольной группы показало, что биоинтеграция проходила неравномерно, определялась слабая васкуляризации тканей, а биодеградация материала проходила слабо и только по краю образцов. Исходя из полученных данных, можно сделать выводы, что в местах имплантации опытных образцов группы, а именно коллагенового матрикса производства «Кардиоплант», проходила более быстрая биоинтеграция собственной соединительной ткани, в области новообразованной ткани в большом количестве определялись кровеносные сосуды, и также отсутствовала какая-либо воспалительная реакция.

Ортогнатическая модель имплантации образцов исследуемых материалов была реализована на крупных лабораторных животных, а именно на овцах. Имплантацию материалов проводили в область альвеолярного отростка через внеротовой доступ, который осуществлялся в поднижнечелюстных областях с помощью разрезов. При проведении исследований был использован принцип «разделенного рта», где правая половина челюсти являлась контрольной, а левая – экспериментальной.

Объектами исследования выступили:

- кровяной сгусток (контроль)
- матрикс коллагеновый «Mucograft» (контроль 2)
- матрикс коллагеновый «Кардиоплант» (опыт);

Образцы имплантировались в сформированные карманы, ткани послойно ушивали. Овец выводили из эксперимента спустя 3 и 6 месяцев. После выведения животных из эксперимента проводили забор материалов. Проводили макроскопическую оценку тканей, после чего готовили

гистологические материалы, для проведения микроскопического исследования.

При макроскопическом исследовании у всех животных не было обнаружено воспалительной реакции в местах имплантаций. Гистологические исследования тканей в области имплантации опытных образцов коллагенового матрикса «Кардиоплант» показали, что у всех животных, выведенных из эксперимента спустя 3 и 6 месяцев, воспалительного процесса не было выявлено. У животных, выведенных из эксперимента спустя 3 месяца, область имплантации опытных образцов была представлена плотной неоформленной соединительной тканью, со значительным объёмом оформленной соединительной ткани, также определялось большое количество фиброцитов и фибробластов, встречались групповые новообразованные и зрелые кровеносные сосуды. При проведении исследований типов коллагеновых волокон в области имплантации, были выявлены коллагеновые волокна I и III типов, со средним значением 8.5% и 21.5% соответственно.

Гистологическое исследование образцов тканей животных, выведенных из эксперимента спустя 6 месяцев, показал, что в области имплантации опытных образцов коллагенового матрикса определяется оформленная соединительная ткань, которая представлена коллагеновыми волокнами с большим содержанием ретикулярных клеток и фибробластов. При проведении спектрального анализа были выявлены коллагеновые волокна I и III типов, но у этой группы животных преобладали коллагеновые волокна I типа. Среднее соотношение выглядит следующим образом: 44.6% коллагеновые волокна I типа, 31.4 % коллагеновые волокна III типа. Исходя из полученных результатов, можно сделать выводы, что опытные образцы показали такие же результаты, как и образцы контроля, представленного коллагеновым матриксом Mucograft (Geistlich). Отсутствие воспалительного процесса, наличие оформленной соединительной ткани спустя 6 месяцев после имплантации, в большем количестве выявлены коллагеновые волокна

I типа - эти результаты дали возможность для проведения клинических испытаний.

Клинические исследования проводились в МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, где после их успешного завершения было выдано регистрационное удостоверение, и материал поступил на рынок.

С 2019 года мы используем коллагеновый матрикс «FibroMATRIX» в своей клинической практике. С этого момента было успешно прооперировано более 100 человек. Результаты наших клинических исследований и проведенных операций показывают, что применение коллагенового матрикса «FibroMATRIX» в качестве метода увеличения объема прикрепленной десны демонстрирует схожие результаты прироста объема мягких тканей полости рта с методом использования аутогенных трансплантатов, а именно свободного соединительнотканного трансплантата.

Проведенное нами исследование позволило разработать отечественный коллагеновый матрикс, который является эффективной альтернативой зарубежным аналогам и аутоотканям. Его применение снижает интенсивность болевого синдрома и улучшает показатели качества жизни пациентов и значительно снижает финансовую нагрузку на пациента.

ВЫВОДЫ

1. По результатам данных исследований образцов отечественного коллагенового матрикса на клеточных тест-системах установлено, что исследуемые образцы не обладали цитотоксическим эффектом по отношению к клеточным популяциям спустя 48 и 72 часа;

2. При исследовании результатов гетеротопической модели имплантации опытного образца выявлено: отсутствие воспалительного процесса; полная биоинтеграция на всю толщу образца; выраженные процессы ангиогенеза, что доказывает биосовместимость отечественного коллагенового матрикса с тканями организма лабораторного животного;

3. При исследовании результатов ортотопической модели имплантации отечественного коллагенового матрикса выявлено, что области имплантации были представлены преимущественно оформленной соединительной тканью, без признаков воспаления, также определялись множественные новообразованные сосуды, что свидетельствует об эффективности отечественного коллагенового матрикса;

4. Применение отечественного коллагенового матрикса делает методы увеличения объема прикреплённой десны менее травматичными и болезненными в сравнении с использованием аутогенных тканей, что отражается в снижении болевого синдрома и в улучшении показателей качества жизни пациентов;

5. Средний прирост толщины прикреплённой десны в области применения ССТ составил $1,3 \pm 0,85$ мм в области имплантации отечественного коллагенового матрикса, в среднем объем мягких тканей увеличился на $1,2 \pm 0,57$ мм, что свидетельствует об

эффективности коллагенового матрикса, сравнимой с эффективностью ССТ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метод использования отечественного коллагенового матрикса может являться альтернативой применению свободного соединительнотканного трансплантата при увеличении объема прикрепленной десны;

2. Пациентам с выраженной ноцицептивной чувствительностью рекомендовано применение отечественного коллагенового матрикса в качестве материала при проведении мягкотканной пластики полости, во избежание создания дополнительной раневой зоны и уменьшения сроков реабилитации;

3. При проведении пластики мягких тканей с помощью отечественного коллагенового матрикса следует расщепить слизисто-надкостничный лоскут и имплантировать матрикс в сформированный карман, зафиксировав материал резорбируемым шовным материалом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КЛКТ – конусно-лучевая компьютерная томография

НРКТ – направленная регенерация костной ткани

СДТ – свободный десневой трансплантат

ССТ – субэпителиальный соединительнотканый трансплантат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амхадова, М. А. Динамическая оценка метаболизма в мягких тканях при дентальной имплантации у пациентов с тонким биотипом десны / М. А. Амхадова, А. М. Фролов // Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 3, № 24(361). – С. 6-11. – EDN VNVKQD.
2. Антипова Е.В. Виды десневых трансплантатов и их применение в пародонтологической стоматологии/ Пономарев О.Ю. // Пародонтология №2 (79) 2016)
3. Арсенина О. И. Совершенствование диагностики состояния тканей пародонта у пациентов с различным биотипом десны / А. И. Грудянов, А. Г. Надточий [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2019. – Т. 23, № 3-4. – С. 153-157. – DOI 10.18821/1728-2802-2019-23-3-4-153-157. – EDN NWXZYH.
4. Артыкова, Н. К. Вирусные заболевания слизистой оболочки полости рта / Н. К. Артыкова // Вестник последипломного образования в сфере здравоохранения. – 2022. – № 2. – С. 84-90. – EDN NZSGOP.
5. Ашурко И. П. 3D-анализ толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов после проведения мягкотканной аугментации / С. В. Тарасенко, А. В. Есаян, А. И. Галяс // Медицинский алфавит. – 2022. – № 7. – С. 79-84. – DOI 10.33667/2078-5631-2022-7-79-84. – EDN SLODWY.
6. Ашурко И. П. Использование коллагенового матрикса для увеличения толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов / И. П. Ашурко, А. В. Есаян, А. И. Галяс // Паринские чтения 2022. Инновации в прогнозировании, диагностике, лечении и медицинской реабилитации пациентов с хирургической патологией черепно-челюстно-лицевой области и шеи : сборник трудов Национального конгресса с международным участием, посвященного памяти профессора, Заслуженного деятеля науки Республики Беларусь О. П. Чудакова, Минск, 05–06 мая 2022 года. – Минск: Белорусский

государственный медицинский университет Белорусский государственный университет, 2022. – С. 73-77. – EDN GOJOSE

7. Ашурко И. П. Оценка клинической эффективности применения свободного соединительнотканного трансплантата и коллагенового матрикса для увеличения толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов /, С. В. Тарасенко, А. В. Есяян [и др.] // Пародонтология. – 2022. – Т. 27, № 2. – С. 117-125. – DOI 10.33925/1683-3759-2022-27-2-117-125. – EDN WLZZGS

8. Ашурко И. П. Сравнительный анализ различных методов увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны у пациентов при проведении ден-тальной имплантации : дис. ...канд. мед. наук : 14.01.14 / Ашурко Игорь Павлович. – М., 2016.

9. Ашурко И. П. Сравнительный гистоморфометрический анализ мягких тканей, сформировавшихся в области дентальных имплантатов после пересадки соединительнотканного трансплантата и коллагенового матрикса /, С. В. Тарасенко, А. В. Есяян [и др.] // Российская стоматология. – 2022. – Т. 15, № 2. – С. 22-30. – DOI 10.17116/rosstomat20221502122. – EDN DGXUNP.

10. Ашурко, И. П. Современные представления о хирургических методах увеличения толщины слизистой оболочки при проведении дентальной имплантации / И. П. Ашурко, С. В. Тарасенко, А. В. Есяян, М. Л. Магдалянова, А. И. Галяс // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2021. – № 1-2 (51-52). – С. 82–79.

11. Беспалова, Н. А. Возможности хирургического устранения и профилактики рецессии десны с использованием различных видов трансплантационной техники / Н. А. Беспалова, Е. А. Дурново, С. В. Шашурина // Медицинский альманах. – 2015. – № 3(38). – С. 150-155. – EDN UNCKTP.

12. Бойко Е.М. Экспериментально-клиническое обоснование применения резорбируемой коллагеновой мембраны при направленной костной регенерации: дис. ...канд. мед. наук : 14.01.14 / Бойко Евгений Михайлович. – С., 2019.

13. Брайловская Т. В. Увеличение ширины кератинизированной прикрепленной десны у пациентов при проведении дентальной имплантации / А. П. Ведяева, Р. В. Калинин [и др.] // Сеченовский вестник. – 2018. – № 4(34). – С. 5-15. – DOI 10.26442/22187332.2018.4.5-15. – EDN VUTIMF.

14. Галкина Е. С. Проблемы реабилитации пациентов после реконструктивных операций на мягких тканях полости рта / В. А. Тараканова, А. В. Грехов [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2020. – Т. 8, № 4. – С. 609-616. – DOI 10.23888/HMJ202084609-616. – EDN LXMSLQ.

15. Галкина Е.С. Разработка метода трехмерной реконструкции мягких тканей полости рта после проведения костно-пластических вмешательств на челюстях при имплантологическом лечении: дис. ...канд. мед. наук : 14.01.14 / Галкина Екатерина Сергеевна.- НН., 2022

16. Гарибян Э.А. Сравнительный анализ хирургических методов увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны у пациентов при устранении рецессий: дис. ...канд. мед. наук : 14.01.14 / Гарибян Эдгар Артурович. – М., 2020.

17. Грудянов А.И., Сравнительный анализ отдаленных результатов использования различных ауто- и аллотрансплантатов для создания зоны кератинизированной десны при вестибулопластике на нижней челюсти / Николаев А.В. // Стоматология. 2016;95(1):40-43.

18. Гуцин, Я. А. Сравнительная анатомия ротовой полости экспериментальных животных и человека / Я. А. Гуцин, В. В. Кванчиани // Лабораторные животные для научных исследований. – 2020. – № 1. – С. 9-22. – DOI 10.29296/2618723X-2020-01-02. – EDN QLVFNT.

19. Гуцин, Я. А. Сравнительная анатомия ротовой полости экспериментальных животных и человека / Я. А. Гуцин, В. В. Кванчиани // Лабораторные животные для научных исследований. – 2020. – № 1. – С. 9–22.

20. Давидян А.Л. Использование альтернативного источника свободного соединительнотканного трансплантата. // Пародонтология. – 2007. – №4 (45). – С. 35-39.

21. Давидян А.Л. Применение свободного соединительнотканного трансплантата для устранения рецессии // Клиническая стоматология. – 2003. – № 4. - С. 11-15.

22. Долгалев А. А. Экспериментально-клиническое исследование функционального действия коллагенового 3D-матрикса / Амхадова М. А., Зеленский В. А., Чагаров А.А. [и др.] // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 238-244. – DOI 10.33925/1683-3759-2020-25-3-238-244. – EDN DLOHVU

23. Дурново, Е. А. Особенности регенерации слизистой оболочки полости рта при пластике свободным десневым трансплантатом / Е. А. Дурново, А. А. Ар-тифехова, А. В. Воробьева [и др.]. // Медицинский альманах. – 2011. – № 4 (17). – С.173–176.

24. Дурново, Е. А. Управление мягкими тканями как залог успешного и прогнозируемого имплантологического лечения / Е. А. Дурново, Е. С. Галкина, Н. Б. Рунова, А. И. Корсакова // Dental Forum. – 2020. – № 4 (79). – С. 20–22.

25. Дьякова, М. В. Сохранение костного и мягкотканного компонентов альвеолярного гребня при немедленной имплантации в эстетической зоне челюстей в условиях дефицита костной ткани / М. В. Дьякова, Н. А. Беспалова, А. С. Клочков, Е. А. Дурново // Современные технологии в медицине. – 2020. – № 12 (1). – С. 57–64.

26. Есаян А.В. Сравнительный анализ эффективности применения ксеногенных коллагеновых матриксов и свободного соединительнотканного трансплантата у пациентов с установленными дентальными имплантатами: дис. ...канд. мед. наук : 3.1.7. / Есаян Александр Валерьевич.- М., 2022

27. Зеленский В. И. Локализация эпюлиса в области имплантатов. Клинический случай / Долгалев А. А., Юсупов Р. Д., Чагаров А.А. [и др.] //

Медицинский алфавит. – 2021. – № 12. – С. 38-41. – DOI 10.33667/2078-5631-2021-12-38-41. – EDN PHVLWQ.

28. Зюлькина Л.А. Механизмы возникновения и методы устранения рецессии десны / Кобринчук К.Ю., Иванов П.В., Капралова Г.А.. //Современные проблемы науки и образования. - 2017. -№ 1. - С. 54.

29. Зюлькина, Л. А. Современный взгляд на этиологию и патогенез рецессии десны / Л. А. Зюлькина, Д. А. Брундасов // Современные исследования - 2017 : Сборник статей по материалам Международных научно-практических конференций / под общей редакцией А.И. Вострецова. – Нефтекамск : Научно-издательский центр "Мир науки" (ИП Вострецов Александр Ильич), 2017. – С. 453-458. – EDN XWJHZJ.

30. Ивановский, В. А. Роль вируса простого герпеса первого типа в заболеваниях полости рта у детей / В. А. Ивановский, И. Н. Антонова, В. А. Молокова // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2022. – Т. 22, № 2(82). – С. 143-151. – DOI 10.33925/1683-3031-2022-22-2-143-151. – EDN YWILOR.

31. Карнеева, Т. В. Рецессия десны и ее основные причины / Т. В. Карнеева // Здравоохранение Дальнего Востока. – 2019. – № 4(82). – С. 54-56. – DOI 10.33454/1728-1261-2019-4-54-56. – EDN ICAUVO.

32. Козлов, В. И. Анатомия полости рта : Рабочая тетрадь / В. И. Козлов, Т. А. Цехмистренко, Т. Ю. Цветкова. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью "ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА", 2019. – 80 с. – ISBN 978-5-98811-517-5. – EDN LSQQIF.

33. Костригина Е. Д. Рецессия десны. Этиология и патогенез патологии / П. В. Иванов, А. Н. Галкин [и др.] // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2019. – № 5. – С. 149-152. – EDN NQFDFP.

34. Кулаков А. А. Современные подходы увеличения объема мягких тканей в области зубов и имплантатов с использованием соединительнотканых аутотрансплантатов / В. А. Бадалян, Д. А. Паринов,

А. Ю. Мартиросова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2020. – № 2. – С. 69-73. – DOI 10.17513/mjprfi.13012. – EDN BXMRNB.

35. Лысов А. Д. Патент № 2546104 РФ, МПК А61С 8/00 (2006.01), А61В 17/24 (2006.01). Способ дентальной имплантации одномоментно с пластикой мягких тканей : № 2014109733/14 : заявл. 13.03.2014 : опубл. 10.04.2015 / Лысова М. Д. ; заявитель Негосударственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Медицинский институт «РЕАВИЗ»

36. Лысов, А. Д. Клинико-лабораторное обоснование новой технологии вестибулопластики при формировании периимплантатной буферной зоны : 14.01.14 : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Лысов Александр Дмитриевич ; Медицинский университет «РЕАВИЗ». – Самара, 2020. – 191 с. – Библиогр.: с. 17-31.

37. Мерзлякова, Н. Ю. Этиология рецессии десны / Н. Ю. Мерзлякова // Евразийское Научное Объединение. – 2018. – № 5-4(39). – С. 207-210. – EDN XQXLFJ.

38. Мулькибаева, Ш. Ш. Гистофункциональные особенности строения слизистой оболочки полости рта / Ш. Ш. Мулькибаева // . – 2020. – № 3. – С. 7-11. – EDN JTUDZB.

39. Носова М. А. Хирургическое лечение множественных рецессий десны с комбинированным применением аутотрансплантата и аллогенной лиофилизированной dura mater: клинический случай / Л. Т. Волова, А. Н. Шаров [и др.] // Пародонтология. – 2021. – Т. 26, № 2. – С. 125-136. – DOI 10.33925/1683-3759-2021-26-2-125-136. – EDN TEJHNSK.

40. Постников М. А. Современные аспекты этиопатогенеза рецессии десны / А. В. Винник, Р. Р. Рахимов [и др.] // . – 2022. – Т. 22, № 4. – С. 27-32. – DOI 10.55531/2072-2354.2022.22.4.27-32. – EDN KLNZLZE.

41. Сабиров, Э. Э. Современный взгляд на этиопатогенез и лечение рецессии десны / Э. Э. Сабиров, Ш. А. Боймурадов // *Stomatologiya*. – 2021. – № 1. – С. 25-28. – EDN DUNBYQ

42. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018613066. Программный модуль для обработки информационных массивов данных для объемного прайтинга биотканей: заявл. 10.01.2018; опубл. 02.03.2018 / Долгалева А.А., Долгалева А.А., Аракелян Н. Г., Мураев А.А., Чагаров А.А., Подопригора Н.Б., Таран И. С., Ивашкевич С. Г.; заявитель и патентообладатель ООО «Северо-Кавказское медицинское малое инновационное предприятие» (RU).

43. Тарасенко С. В. Особенности гистологической картины у пациентов с дентальными имплантатами после хирургического увеличения зоны кератинизированной десны / А. Б. Шехтер, С. В. Загорский, Е. Ю. Дьячкова // *Российский вестник дентальной имплантологии*. – 2019. – № 1-2(43-44). – С. 36-42. – EDN UHTGAR.

44. Тарасенко, С. В. Гистологические результаты использования коллагенового матрикса для увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны в области дентальных имплантатов / С. В. Тарасенко, А. Б. Шехтер, И. П. Ашурко // *Российская стоматология*. – 2015. – № 2. – С. 4–9.

45. Тарасенко, С. В. Обзор методик и материалов, используемых для увеличения объема десны / С. В. Тарасенко, С. В. Загорский // *Клиническая практика*. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 57-62. – DOI 10.17816/clinpract10157-62. – EDN LIFFJU.

46. Тарасенко, С. В. Сравнительная характеристика применения аутогенных и ксеногенных материалов для аугментации десны / С. В. Тарасенко, С. В. Загорский, Е. Ю. Дьячкова // *Российская стоматология*. – 2019. – Т. 12, № 1. – С. 42-46. – DOI 10.17116/rosstomat20191201142. – EDN SIVQGG.

47. Тунева, Н. А. Проблемы дентальной имплантации / Н. А. Тунева, Н. В. Богачева, Ю. О. Тунева // Вятский медицинский вестник. – 2019. – № 2(62). – С. 86-93. – EDN WNOVXV

48. Фархшатова, Р. Р. Применение 3D коллагенового матрикса FibroMATRIX для регенерации мягких тканей полости рта при лечении рецессии десны I класса по Миллеру / Р. Р. Фархшатова, Л. П. Герасимова, М. Ф. Кабирова // Эндодонтия Today. – 2020. – Т. 8, №3. – С. 32–38.

49. Чернегов В. В. Вестибулопластика встречными транспозиционными лоскутами / И. И. Бородулина, Г. В. Москвин [и др.] // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39, № S3. ч. 5. – С. 230–234.

50. Шевлюк Н. Н. Гистология органов полости рта / А. А. Стадников, Е. В. Блинова, Л. В. Ковбык ; Оренбургский государственный медицинский университет. – Оренбург : Оренбургский государственный медицинский университет, 2021. – 138 с. – EDN NSTIME.

51. Юсупова, С. С. Хирургические методы устранения рецессии десны / С. С. Юсупова, В. С. Паршин, Ю. С. Юсупова // Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации : сборник статей XXVII Международной научно-практической конференции, Пенза, 15 октября 2019 года. – Пенза: "Наука и Просвещение" (ИП Гуляев Г.Ю.), 2019. – С. 211-214. – EDN KPWEXY.

52. Яременко А. И. Лазерная модификация мягких тканей в периимплантатной зоне / А. Ю. Зерницкий, Е. А. Зерницкая, А. И. Столярова // Институт стоматологии. – 2020. – № 2(87). – С. 33-35. – EDN XDOOBV.

53. Яременко, А. И. Актуальные методы использования жирового тела щеки в лечении патологических процессов и состояний челюстно-лицевой области / А. И. Яременко, Д. В. Лебедев, М. В. Катина // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 3. – С. 8. – EDN XRQTKH.

54. Agrawal H, Kumar R, Kanteshwari IK, Jaiswal G, Marothiya S, Jasuja A, et al. Soft & Hard Tissue Assessment around Immediate & Delayed Implants: A Clinico-Radiographical Study. *Mymensingh Medical Journal: MMJ*. 2020;29(3):691-700.

55. Alan T. Cruchley, Structure and Functions of the Oral Mucosa / Lesley Ann Bergmeier // *Oral Mucosa in Health and Disease/ 2018- pp 1-18*

56. Alsalhi RH, Tabasum ST. Prevalence of gingival recession and its correlation with gingival phenotype in mandibular incisors region of orthodontically treated female patients: A cross-sectional study. *J Indian Soc Periodontol*. 2021 Jul-Aug;25(4):341-346. doi: 10.4103/jisp.jisp_526_20. Epub 2021 Jul 1. PMID: 34393406; PMCID: PMC8336773.

57. Ana Suzy Jati Gingival recession: its causes and types, and the importance of orthodontic treatment/ et. al. // *Dental Press J. Orthod.* — 2016. — Vol. 21, №3. — P. 18–29.

58. Baker P. Gingival Recession - Causes and Management. *Prim Dent J*. 2020 Jan 29;8(4):40-47. doi: 10.1308/205016820828463843. PMID: 32127093.

59. Barakat, H. A Porcine Collagen Matrix (Mucograft®) vs Connective Tissue Graft in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: A Comparative Clinical Study / H. Barakat, S. Dayoub, R. Alarkan // *World J. Dent.* – 2018. – № 9 (4). – P. 275–279.

60. Bassetti, R. G. Soft tissue augmentation procedures at second-stage surgery: a systematic review / R. G. Bassetti, A. Stahli, M. A. Bassetti [et al.] // *Clin. Oral. Investig.* – 2016. – № 20 (7). – P. 1369–1387.

61. Bjorn H. Free transplantation of gingival propria // *Sven Tandlak Tidskr.* – 1963. – №22. – P. 684.

62. Brizuela M, Winters R. Histology, Oral Mucosa. 2022 May 15. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 34283481.

63. Bruckmann, Corinna and Gernot Wimmer. “Gingival Recession: Clinical Examination and Diagnostics.” (2018).

64. Cairo F. Periodontal plastic surgery of gingival recessions at single and multiple teeth. *Periodontol* 2000. 2017 Oct;75(1):296-316. doi: 10.1111/prd.12186. PMID: 28758301.

65. Cardaropoli, D. Soft tissues and pink esthetics in implant therapy / D. Cardaropoli, P. Casentini. – Batavia, IL : Quintessence Publishing Co., Inc., 2019.

66. Carlo Maiorana Use of a Collagen Matrix as a Substitute for Free Mucosal Grafts in Pre-Prosthetic Surgery: 1 Year Results From a Clinical Prospective Study on 15 Patients / Mario Beretta, Luca Pivetti, Enrico Stoffella, Giovanni B. Grossi, Alan S.Herford // *The Open Dentistry Journal*, 2016, 10, 395-410

67. Chappuis V. Novel Collagen Matrix to Increase Tissue Thickness Simultaneous with Guided Bone Regeneration and Implant Placement in Esthetic Implant Sites: A Feasibility Study / Shahim K., Buser R., Koller E., Joda T., Reyes M., Buser D. // *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. – 2018. - 07 Vol. 38.- Iss. 4

68. Craft RO, Rebecca AM, Flahive C, et al. Does size matter? Technical considerations of a regenerative tissue matrix for use in reconstructive surgery. *Can J Plast Surg*. 2011;19:51–52.

69. D. Buser Early implant placement following single-tooth extraction in the esthetic zone: biologic rationale and surgical procedures /, S. T. Chen, H. P. Weber [et al.] // *The International journal of periodontics and restorative dentistry*. – 2008. – Vol. 28, № 5. – P. 441–451.

70. Dadlani S. Porcine Acellular Dermal Matrix: An Alternative to Connective Tissue Graft-A Narrative Review. *Int J Dent*. 2021 Sep 6;2021:1652032. doi: 10.1155/2021/1652032. PMID: 34527053; PMCID: PMC8437668.

71. Davis B, Serra M. Buccal Fat Pad Reduction. 2022 Nov 21. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 35015438

72. De Angelis P, De Angelis S, Passarelli PC, et al. Clinical comparison of a xenogeneic collagen matrix versus subepithelial autogenous connective tissue graft for augmentation of soft tissue around implants. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2021;50(7):956-963

73. de Resende D. R. B., Gregghi S. L. A., Siqueira A. F., Benfatti C. A. M., Damante C. A., Ragghianti Zangrando M. S. Acellular dermal matrix allograft versus free gingival graft: a histological evaluation and split-mouth randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations.* 2019;23(2):539–550. doi: 10.1007/s00784-018-2470-6.

74. Deeb JG, Deeb GR. Oral Soft Tissue Grafting. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2020 Nov;32(4):611-630. doi: 10.1016/j.coms.2020.07.006. Epub 2020 Sep 7. PMID: 32912774.

75. Esfahrood ZR Gingival biotype: a review / Kadkhodazadeh M, Talebi Ardakani MR. // *Gen Dent.* 2013 Jul;61(4):14-7. PMID: 23823337.

76. Faleris JA, Hernandez RM, Wetzel D, et al. In-vivo and in-vitro histological evaluation of two commercially available acellular dermal matrices. *Hernia.* 2011; 15:147–156.

77. Fickl, S. Scar Tissue Formation Following Alveolar Ridge Preservation: A Case Control Study / S. Fickl, F. Kauffmann, C. F. Stappert [et al.] // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2018 Jan-Feb. – № 38 (1). – P. 7.

78. Fischer KR, Testori T, Wachtel H, Mühlemann S, Happe A, Del Fabbro M. Soft tissue augmentation applying a collagenated porcine dermal matrix during second stage surgery: A prospective multicenter case series. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019 Oct;21(5):923-930. doi: 10.1111/cid.12817. Epub 2019 Jul 15. PMID: 31309705.

79. Frizzera F, Oliveira GJPL, Shibli JA, Moraes KC, Marcantonio EB, Marcantonio Junior E. Treatment of peri-implant soft tissue defects: a narrative review. *Braz Oral Res.* 2019 Sep 30;33(suppl 1):e073. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0073. PMID: 31576957.

80. Frizzera F, Oliveira GJPL, Shibli JA, Moraes KC, Marcantonio EB, Marcantonio Junior E. Treatment of peri-implant soft tissue defects: a narrative review. *Braz Oral Res.* 2019 Sep 30;33(suppl 1):e073. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0073. PMID: 31576957.

81. Gisotti M, Lops D, Valente NA. Esthetic management of space and soft tissue deficiencies in implant therapy: combined orthodontic-mucogingival approach. *Int J Esthet Dent.* 2022 Feb 17;17(1):42-56. PMID: 35175007.

82. Groeger S, Meyle J. Oral Mucosal Epithelial Cells. *Front Immunol.* 2019;10:208

83. Harris, R. Evaluation of root coverage with two connective tissue grafts obtained from the same location / R. Harris, L. Harris, C. Harris, A. Harris. // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2007. – № 27. – P. 333–339.

84. Herrera-Serna BY, López-Soto OP, Chacón T, Montoya-Gómez AM, Agudelo-Flórez D, Zuluaga-López OH. Relationship between the gingival biotype and the results of root covering surgical procedures: A systematic review. *J Clin Exp Dent.* 2022 Sep 1;14(9):e762-e768. doi: 10.4317/jced.59783. PMID: 36158778; PMCID: PMC9498636.

85. Joseph Y. K. Kan Gingival biotype assessment in the esthetic zone: visual versus direct measurement / Taichiro Morimoto, Kitichai Rungcharassaeng, Phillip Roe, Dennis H. Smith // *The International journal of periodontics & restorative dentistry.* — 2010. — 30(3). P. 237-243.

86. Lee A, Fu JH, Wang HL. Soft tissue biotype affects implant success. *Implant Dent.* 2011 Jun;20(3):e38-47. doi: 10.1097/ID.0b013e3182181d3d. PMID: 21613940.

87. Linkevicius, T. Zero bone loss concepts / T. Linkevicius. – USA : Quintessence Publishing, 2019. – 304 p. – ISBN 978-0-86715-799-4.

88. Lorenzo R, García V, Orsini M, Martin C, Sanz M. Clinical efficacy of a xenogeneic collagen matrix in augmenting keratinized mucosa around implants: a randomized controlled prospective clinical trial. *Clin Oral Implants*

Res. 2012 Mar;23(3):316-24. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02260.x. Epub 2011 Nov 14. PMID: 22092380.

89. Lysov, A. Esthetic and functional integration of soft tissue around dental implants: thickness, width, stability / A. Lysov, A. Saadoun. // *The Journal of oral implantology*. – 2021. – doi 10.1563/aaid-joi-D-21-00103.

90. Maiorana C, Pivetti L, Signorino F, Grossi GB, Herford AS, Beretta M. The efficacy of a porcine collagen matrix in keratinized tissue augmentation: a 5-year follow-up study. *Int J Implant Dent*. 2018 Jan 10;4(1):1. doi: 10.1186/s40729-017-0113-3. PMID: 29318405; PMCID: PMC5760488.

91. Martin, W. C. Pre-operative analysis and prosthetic treatment planning in esthetic implant dentistry / W. C. Martin, D. Morton, D. Buser. // *Implant therapy in the esthetic zone for single-tooth replacements*. ITI Treatment Guide Series / edited by D. Buser, U. C. Belser, D. Wismeijer. – Berlin : Quintessenz Verlags GmbH, 2006. – Vol. 1. – P. 9–24.

92. Masci VL Ultrastructural investigation on fibroblast interaction with collagen scaffold / Taddei AR, Gambellini G, Giorgi F, Fausto AM // *J Biomed Mater Res A*.- 2016. - 104:272–282.).

93. Menceva Z, Dimitrovski O, Popovska M, Spasovski S, Spirov V, Petrushevska G. Free Gingival Graft versus Mucograft: Histological Evaluation. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Mar 27;6(4):675-679. doi: 10.3889/oamjms.2018.127. PMID: 29731940; PMCID: PMC5927503.

94. Monje A, Blasi G. Significance of keratinized mucosa/gingiva on peri-implant and adjacent periodontal conditions in erratic maintenance compliers. *J Periodontol* 2019;90:445-453.

95. Murakami S., Mizobuchi M., Nakashiro Y. Bell palsy and herpes simplex virus: Identification of viral DNA in endoneurial fluid and muscle. *Annals of Internal Medicine*, 2021, No. 124, pp. 27-30.

96. Nevins M The use of mucograft collagen matrix to augment the amount of keratinized tissue around teeth: A pilot study / Nevins ML, Kim SW, et al // *Int J Periodontics Restorative Dent*. – 2011. - 31: 367–373.

97. Pabst A. M., Happe A., Callaway A., et al. In vitro and in vivo characterization of porcine acellular dermal matrix for gingival augmentation procedures. *Journal of Periodontal Research*. 2014;49(3):371–381. doi: 10.1111/jre.12115.
98. Pabst A. M., Lehmann K. M., Walter C., Krüger M., Stratul S. I., Kasaj A. Influence of porcine-derived collagen matrix on endothelial progenitor cells: an in vitro study. *Odontology*. 2016;104(1):19–26. doi: 10.1007/s10266-014-0186-x.
99. Papi P., Pompa G. The use of a novel porcine derived acellular dermal matrix (mucoderm) in peri-implant soft tissue augmentation: preliminary results of a prospective pilot cohort study. *BioMed Research International*. 2018;2018 doi: 10.1155/2018/6406051.6406051
100. Petrungaro P. Correction of Iatrogenic gingival recession in the esthetic zone. *Inside Dentistry*. 2007;11:2–4
101. Petrungaro PS. Acellular dermal matrix tissue grafts. *Inside Dentistry*. 2010;6:2–9.
102. Pimentel T, Hadad H, Statkiewicz C, Alcantara-Júnior AG, Vieira EH, Souza FÁ, Garcia-Júnior IR. Management of Complications Related to Removal of the Buccal Fat Pad. *J Craniofac Surg*. 2021 May 01;32(3):e238-e240.
103. Pini-Prato, G. P. Long-term evaluation (20 years) of the outcomes of subepi-thelial connective tissue graft plus coronally advanced flap in the treatment of maxillary single recession-type defects / G. P. Pini Prato, D. Franceschi, P. Cortellini, L. Cham-brone // *J. Periodontol.* – 2018. – № 89. – P. 265–274.
104. Puisys A, Deikuvienė J, Vindasiute-Narbutė E, Razuokevičius D, Zvirblis T, Linkevicius T. Connective tissue graft vs porcine collagen matrix after immediate implant placement in esthetic area: A randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2022 Apr;24(2):141-150. doi: 10.1111/cid.13058. Epub 2022 Mar 24. PMID: 35324053.
105. Puzio M, Błaszczyszyn A, Hadzik J, Dominiak M. Ultrasound assessment of soft tissue augmentation around implants in the aesthetic zone using

a connective tissue graft and xenogeneic collagen matrix – 1-year randomised follow-up. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*. 2018;217:129-141.

106. Rahpeyma A, Khajehahmadi S. Buccal Fat Pad Graft in Maxillofacial Surgery. *Indian J Surg Oncol*. 2021 Dec;12(4):802-807. doi: 10.1007/s13193-021-01436-z. Epub 2021 Sep 8. PMID: 35110906; PMCID: PMC8763993.

107. Rakasevic DL, Milinkovic IZ, Jankovic SM, Soldatovic IA, Aleksic ZM, Nikolic-Jakoba NS. The use of collagen porcine dermal matrix and connective tissue graft with modified coronally advanced tunnel technique in the treatment of multiple adjacent type I gingival recessions: A randomized, controlled clinical trial. *J Esthet Restor Dent*. 2020 Oct;32(7):681-690. doi: 10.1111/jerd.12624. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32706184.

108. Rezvani Ghomi E, Nourbakhsh N, Akbari Kenari M, Zare M, Ramakrishna S. Collagen-based biomaterials for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2021 Dec;109(12):1986-1999. doi: 10.1002/jbm.b.34881. Epub 2021 May 24. PMID: 34028179.

109. Rosa Rojo, Soft Tissue Augmentation Techniques in Implants Placed and Provisionalized Immediately: A Systematic Review / Juan Carlos Prados-Frutos, Ángel Manchón, Jesús Rodríguez-Molinero, Gilberto Sammartino, José Luis Calvo Guirado, and Rafael Gómez-de Diego // *BioMed Research International* Volume 2016, Article ID 7374129, 12 pages

110. Ruiz-Magaz V, Hernández-Alfaro F, Díaz-Carandell A, et al. Acellular dermal matrix in soft tissue reconstruction prior to bone grafting. A case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010;15:e61–64

111. Saghiri M. A., Asatourian A., Garcia-Godoy F., Sheibani N. The role of angiogenesis in implant dentistry part II: the effect of bone-grafting and barrier membrane materials on angiogenesis. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2016;21(4):e526–e537. doi: 10.4317/medoral.21200.

112. Sanz-Martín I, Encalada C, Sanz-Sánchez I, Aracil J, Sanz M. Soft tissue augmentation at immediate implants using a novel xenogeneic collagen matrix in conjunction with immediate provisional restorations: A prospective case

series. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019 Feb;21(1):145-153. doi: 10.1111/cid.12696. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30508313.

113. Schallhorn R. Evaluation of a porcine collagen matrix used to augment keratinized tissue and increase soft tissue thickness around existing dental implants / McClain P, Charles A, Clem D, Newman M // *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry.*- 2015.- 01 Vol. 35.- Iss. 1)

114. Shi LJ, Wang Y, Yang C, et al. Application of acellular dermal matrix in reconstruction of oral mucosal defects in 36 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70: e586–591.

115. Stankovic, D. Use of acellular collagen matrix for the closure of the open oral wound in bone regeneration / D. Stankovic, M. Labudovic-Borovic, R. Radosavljevic [et al.] // *J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg.* – 2018 Nov. – № 119 (5). – P. 446–449.

116. Tarquini G Coronally Advanced Flap Technique to Treat Class I and II Gingival Recession in Combination with Connective Tissue Graft or Equine Collagen Matrix: A Retrospective Study / *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry.* – 2017.- 07 Vol. 37

117. Tavelli L, Barootchi S, Avila-Ortiz G, Urban IA, Giannobile WV, Wang HL. Peri-implant soft tissue phenotype modification and its impact on peri-implant health: A systematic review and network meta-analysis. *J Periodontol.* 2021 Jan;92(1):21-44. doi: 10.1002/JPER.19-0716. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32710810.

118. Tavelli L, Barootchi S, Avila-Ortiz G, Urban IA, Giannobile WV, Wang HL. Peri-implant soft tissue phenotype modification and its impact on peri-implant health: A systematic review and network meta-analysis. *J Periodontol.* 2021 Jan;92(1):21-44. doi: 10.1002/JPER.19-0716. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32710810.

119. Tavelli L, Ravidà A, Lin GH, Del Amo FS, Tattan M, Wang HL. Comparison between Subepithelial Connective Tissue Graft and De-epithelialized

Gingival Graft: A systematic review and a meta-analysis. *J Int Acad Periodontol.* 2019 Apr 1;21(2):82-96. PMID: 31522155.

120. Testori T, Weinstein T, Scutellà F, Wang HL, Zucchelli G. Implant placement in the esthetic area: criteria for positioning single and multiple implants. *Periodontol 2000.* 2018 Jun;77(1):176-196. doi: 10.1111/prd.12211. Epub 2018 Feb 27. PMID: 29484714.

121. Thoma Daniel S. A systematic review assessing soft tissue augmentation techniques / Goran I. Benic', Marcel Zwahlen, Christoph H. F. Hämmmerle, Ronald E. Jung // *Clinical Oral Implants Research.* – 2009. - Vol. 20

122. Thoma DS, Gil A, Hämmmerle CHF, Jung RE. Management and prevention of soft tissue complications in implant dentistry. *Periodontol 2000.* 2022 Feb;88(1):116-129. doi: 10.1111/prd.12415. PMID: 35103320; PMCID: PMC9306802.

123. Thoma, D. S. Effects of soft tissue augmentation procedures on periimplant health or disease: A systematic review and meta-analysis / D. S. Thoma, N. Naenni, E. Figuero [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2018. – № 29 (suppl. 15). – P. 32–49.

124. Tonetti MS, . Xenogenic collagen matrix or autologous connective tissue graft as adjunct to coronally advanced flaps for coverage of multiple adjacent gingival recession: Randomized trial assessing non-inferiority in root coverage and superiority in oral health-related quality of life. Cortellini P, Pellegrini G, Nieri M, Bonaccini D, Allegri M, Bouchard P, Cairo F, Conforti G, Fourmouis I, Graziani F, Guerrero A, Halben J, Malet J, Rasperini G, Topoll H, Wachtel H, Wallkamm B, Zabalegui I, Zuhre O *J Clin Periodontol.* 2018 Jan;45(1):78-88. doi: 10.1111/jcpe.12834. Epub 2017 Nov 21. PMID: 29087001; PMCID: PMC5765511.

125. Vellis, J. Comparison of Xenogeneic Collagen Matrix vs. Free Gingival Grafts to Increase the Zone of Keratinized Mucosa Around Functioning

Implants / J. Vellis, A. Kutkut, M. Al-Sabbagh // *Implant Dent.* – 2019. – № 28 (1). – P. 20–27.

126. Vignoletti F Clinical and histological healing of a new collagen matrix in combination with the coronally advanced flap for the treatment of Miller class-i recession defects: An experimental study in the minipig / Nunez J, Discepoli N, et al. // *J Clin Periodontol.* – 2011. - 38:847–855)

127. Wang SS, Tang YL, Pang X, Zheng M, Tang YJ, Liang XH. The maintenance of an oral epithelial barrier. *Life Sci.* 2019 Jun 15;227:129-136.

128. Williams DW, Greenwell-Wild T, Brenchley L, Dutzan N, Overmiller A, Sawaya AP, Webb S, Martin D; NIDCD/NIDCR Genomics and Computational Biology Core; Hajishengallis G, Divaris K, Morasso M, Haniffa M, Moutsopoulos NM. Human oral mucosa cell atlas reveals a stromal-neutrophil axis regulating tissue immunity. *Cell.* 2021 Jul 22;184(15):4090-4104.e15. doi: 10.1016/j.cell.2021.05.013. Epub 2021 Jun 14. PMID: 34129837; PMCID: PMC8359928.

129. Wolff J. Soft Tissue Augmentation Techniques and Materials Used in the Oral Cavity: An Overview/ Farré-Guasch El., K. Sándor G., Gibbs S., Jager D.J., Forouzanfar, T.// *Implant dentistry, Volume 25, № 3* – 2016.

130. Yeung SC. Biological basis for soft tissue management in implant dentistry. *Aust Dent J* 2008; 53: 539–42.

131. Yim H, Cho YS, Seo CH, Lee BC, Ko JH, Kim D, Hur J, Chun W, Kim JH. The use of AlloDerm on major burn patients: AlloDerm prevents post-burn joint contracture. *Burns.* 2010 May;36(3):322-8. doi: 10.1016/j.burns.2009.10.018. Epub 2010 Jan 18. PMID: 20080353.

132. Zheng Z, Ao X, Xie P, Jiang F, Chen W. The biological width around implant. *J Prosthodont Res.* 2021 Feb 24;65(1):11-18. doi: 10.2186/jpr.JPOR_2019_356. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32938861.

133. Zucchelli G, Tavelli L, McGuire MK, Rasperini G, Feinberg SE, Wang HL, Giannobile WV. Autogenous soft tissue grafting for periodontal and

peri-implant plastic surgical reconstruction. *J Periodontol.* 2020 Jan;91(1):9-16. doi: 10.1002/JPER.19-0350. Epub 2019 Oct 6. PMID: 31461778.

134. Zucchelli G, Tavelli L, Stefanini M, Barootchi S, Mazzotti C, Gori G, Wang HL. Classification of facial peri-implant soft tissue dehiscence/deficiencies at single implant sites in the esthetic zone. *J Periodontol.* 2019 Oct;90(10):1116-1124. doi: 10.1002/JPER.18-0616. Epub 2019 Jun 3. PMID: 31087334.

135. Zucchelli G. Classification of Facial Peri-implant Soft Tissue Dehiscences/ Deficiencies at Single Implant Sites in the esthetic zone // Lorenzo Tavelli, Martina Stefanini, Shayan Barootchi, Claudio Mazzotti, Guido Gori, Hom-Lay Wang // *J Periodontol.* 2019 Oct;90(10):1116-1124

136. Zucchelli, G. Periodontal plastic surgery / G. Zucchelli, I. Mounssif // *Periodontol* 2000. –2015. – № 68 (1). – P. 333–368.

137. Zukauskas S. Influence of implant placement depth and soft tissue thickness on crestal bone stability around implants with and without platform switching: a comparative clinical trial / A. Puisys, P. Andrijauskas [et al.]. // *The International journal of periodontics and restorative dentistry.* – 2021. – Vol. 41, № 3. – P. 347–355. – doi 10.11607/prd.5256.