

DOI: 10.37988/1811-153X_2024_2_130

[Е.Ю. Дьячкова](#)¹,

к.м.н., доцент кафедры хирургической стоматологии

[М.М. Петухова](#)¹,

стажер-исследователь кафедры хирургической стоматологии, студентка IV курса Института стоматологии

[И.А. Демьяненко](#)²,

к.б.н., научный сотрудник лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета

[Н.В. Калмыкова](#)²,

к.б.н., м.н.с. сотрудник лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета

[А.Л. Файзуллин](#)¹,

к.м.н., зав. лабораторией цифрового микроскопического анализа Института регенеративной медицины

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, Россия² НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, Россия**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**

Дьячкова Е.Ю., Петухова М.М., Демьяненко И.А., Калмыкова Н.В., Файзуллин А.Л. Сравнительный анализ биодegradации и биосовместимости коллагеновых материалов на основе дермального коллагена при подслизистой имплантации в полости рта лабораторных животных. — *Клиническая стоматология*. — 2024; 27 (2): 130—139. DOI: 10.37988/1811-153X_2024_2_130

Сравнительный анализ биодegradации и биосовместимости коллагеновых материалов на основе дермального коллагена при подслизистой имплантации в полости рта лабораторных животных

Реферат. Цель работы — анализ эффективности, биодegradации и биосовместимости стоматологического материала Matriflex (Биофармахолдинг, Россия) в различных вариантах исполнения (Fibro, Direct и Correct) в сравнении с широко используемым в клинической практике импортным материалом Mucoderm (Botiss biomaterials, Германия) при подслизистой имплантации в полости рта кроликов в области оперативного доступа. **Материалы и методы.** Шести животным в области верхней челюсти интраоперационно создавали 4 кармана, в которые помещали исследуемые мембраны. Животных выводили из эксперимента на 14-е и 90-е сутки после операции. В области имплантации стоматологическим микрометром измеряли толщину мягких тканей до оперативного вмешательства, а также на 14-е и 90-е сутки после операции. Для оценки биодegradации и биосовместимости проводили гистологическое исследование тканей из областей имплантации. Оценку тканей на гистологических препаратах проводили методом стандартной оптической микроскопии, выполняли полуколичественный анализ признаков воспаления и регенерации. **Результаты.** Все материалы вызывали увеличение объема мягких тканей в области их имплантации. Выраженность аугментации при имплантации Fibro и Direct была постоянной как на 14-е, так и на 90-е сутки. В то же время Correct и Mucoderm характеризовались положительной динамикой увеличения объема мягких тканей на 14-е и 90-е сутки при сходных величинах измеряемого показателя. По данным гистологического исследования, все мембраны подверглись существенной или полной биодegradации к 90-м суткам после операции. Биодegradация сопровождалась формированием в областях имплантации аутологичной новообразованной соединительной ткани. На 14-е сутки выявлена большая интенсивность неоангиогенеза в областях имплантации Correct и Mucoderm по сравнению с Fibro и Direct. На 90-е сутки наблюдалась большая зрелость аутологичной соединительной ткани в областях имплантации мембран Fibro и Direct по сравнению с Correct и Mucoderm. Также выявлены более выраженные признаки воспаления в области имплантации мембран Correct и Mucoderm на 14-е сутки. На 90-е сутки признаки воспаления отсутствовали во всех группах. **Заключение.** Результаты исследования подтверждают способность стоматологических материалов на основе дермального коллагена эффективно увеличивать объем мягких тканей в ротовой полости. Все исследованные коллагеновые мембраны подвергаются существенной или полной биодegradации в течение 90 суток после имплантации, биосовместимы. Материалы Matriflex могут быть рекомендованы для клинической практики.

Ключевые слова: стоматологические материалы, слизистая полости рта, дефект, имплантация в ткани, коллагеновая мембрана

[E.Yu. Diachkova](#)¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Surgical dentistry Department

[M.M. Petukhova](#)¹,research intern at the Surgical dentistry Department, 4th year student at the Institute of Dentistry[I.A. Demyanenko](#)²,

PhD in Biology, research fellow at the Laboratory of effectors and mediators of immunity

[N.V. Kalmykova](#)²,

PhD in Biology, junior research fellow at the Laboratory of effectors and mediators of immunity

Comparative analysis of biodegradation and biocompatibility of various forms of collagen materials based on dermal collagen after submucosal implantation in the oral cavity of laboratory animals

Abstract. The aim of this work was to analyze the effectiveness, biodegradation and biocompatibility of the dental material Matriflex (Biopharmaholding, Russia) in various versions (Fibro, Direct and Correct) in the context of the imported effect of Mucoderm (Botiss biomaterials, Germany) widely used in clinical practice during submucosal implantation, into the oral cavity of rabbits

A.L. Fayzullin¹,

PhD in Medical Sciences, head of the Digital microscopic analysis Lab at the Institute for Regenerative Medicine

¹ Sechenov University,
119991, Moscow, Russia

² N.F. Gamaleya Research Institute
of Epidemiology and Microbiology,
123098, Moscow, Russia

FOR CITATION:

Diachkova E.Yu., Petukhova M.M., Demyanenko I.A., Kalmykova N.V., Fayzullin A.L. Comparative analysis of biodegradation and biocompatibility of various forms of collagen materials based on dermal collagen after submucosal implantation in the oral cavity of laboratory animals. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2024; 27 (2): 130—139 (In Russian). DOI: 10.37988/1811-153X_2024_2_130

in the area of operational access. **Materials and methods.** In 6 animals, 4 pockets were intraoperatively formed in maxilla area, into which restrictive membranes were placed. Animals were removed from the experiment on the 14th and 90th days after surgery. In the area of implantation, dense soft tissue was measured with a dental micrometer before surgery, as well as on the 14th and 90th days after surgery. To assess biodegradation and biocompatibility, histological examination of tissues in the regions of implantation was carried out. Tissue evaluation on histological preparations was carried out using optical microscopy, conducting semi-quantitative analysis of signs of inflammation and regeneration. **Results.** All studied materials caused an increase in the volume of soft tissue in the area of their implantation. Augmentation effect during implantation of Fibro and Direct was constant both on the 14th and 90th days. At the same time, Correct and Mucoderm were characterized with the presence of positive dynamics in the increase in the volume of soft tissues on the 14th and 90th days, with a convergence of the values of the measured indicator. According to histological examination, all collagen membranes underwent complete or almost complete biodegradation by the 90th day after surgery. Biodegradation was accompanied by formation in the field of implantation of autologous newly formed connective tissue. On the 14th day, a greater degree of neoangiogenesis was revealed in the area of implantation of Correct and Mucoderm compared to Fibro and Direct. On the 90th day, a greater maturity of autologous connective tissue was observed in the area of implantation of Fibro and Direct membranes, compared to Correct and Mucoderm. Also, on the 14th day of the experiment, the presence of more pronounced signs of inflammation was revealed in the area of implantation of Correct and Mucoderm membranes. On the 90th day, there were no signs of presence of inflammation in all groups. **Conclusion.** The results of the study confirm the ability of dental materials based on dermal collagen to effectively utilize the volume of soft tissue in the oral cavity. All collagen membranes studied provide good or complete biodegradation within 90 days after implantation and are biocompatible. Matriflex materials may be preferred for clinical use.

Key words: dental materials, oral mucosa, defect, implantation into tissue, collagen membrane

ВВЕДЕНИЕ

Проблема дефицита объема мягких тканей десны, сопровождающего течение заболеваний пародонта, а также часто выявляемого в областях установки дентальных имплантов, в настоящее время становится все более актуальной в практике врачей-стоматологов в связи с увеличением продолжительности жизни пациентов, а также ростом количества процедур дентальной имплантации. Недостаточность объема десневых тканей приводит как к неблагоприятным эстетическим последствиям вследствие оголения корней зубов и штифтов имплантатов, так и напрямую способствует снижению выживаемости зубов и приживаемости имплантатов [1, 2].

Одним из наиболее эффективных методов лечения дефицита объема мягких тканей десны является хирургический метод аугментации при помощи пересаживаемого аутологичного субэпителиального соединительнотканного трансплантата, получаемого из тканей нёба. В настоящее время в литературе данный метод лечения рассматривается как «золотой стандарт». Тем не менее применение соединительнотканного трансплантата имеет ряд побочных действий и ограничений, включающих в первую очередь болевые ощущения в области вторичного операционного поля, а также ограниченный объем донорской ткани [2].

С целью преодоления ограничений, накладываемых использованием аутологичного соединительнотканного трансплантата, высокую актуальность приобрели работы, направленные на создание биоматериалов — заменителей соединительной ткани. А среди них наибольшее клиническое распространение получили материалы

на основе коллагена в виде так называемых матрикс-ов или мембран [1—5]. В различных исследованиях показано, что применение коллагеновых материалов для аугментации мягких тканей в полости рта приводит к клинически значимым результатам, т.е. это позволяет рассматривать их как обоснованную альтернативу соединительнотканному трансплантату, особенно в тех случаях, когда последние не могут быть получены по различным причинам [6—9].

Коллагеновые материалы могут быть получены из различных источников, что в определенной степени влияет на их физико-химические и биологические свойства в связи с различной ориентацией волокон коллагена в составе такого материала, а также количеством внутри- и межмолекулярных швов в молекулах коллагена. С точки зрения создания материалов для стимуляции роста и регенерации мягких тканей особый интерес представляют имплантаты на основе коллагена дермы кожи. Так, в экспериментальных исследованиях показано, что мембраны на основе дермального коллагена характеризуются достаточно высокой скоростью резорбции, однако они активно стимулируют неоваскулогенез и образование собственной соединительной ткани в области введения [10, 11].

В настоящее время ведется разработка новых материалов на основе коллагена, предназначенных в том числе для аугментации мягких тканей ротовой полости. Одним из таких материалов является отечественный стоматологический материал Matriflex (Биофармахолдинг, Москва), изготавливаемый на основе высокоочищенного коллагена дермы кожи крупного рогатого скота, Matriflex выпускается в трех исполнениях: Fibro,

Direct, и Correct, — различающихся по толщине и плотности коллагеновых волокон.

Цель работы — анализ эффективности, биодegradации и биосовместимости стоматологического материала Matriflex в сравнении с широко используемым в клинической практике импортным материалом Mucoderm (Botiss Biomaterials, Германия) при подслизистой имплантации в полости рта кроликов в области оперативного доступа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучали 4 вида стоматологических материалов для регенерации костной ткани:

- 1) Matriflex Fibro — тонкая мембрана, 0,3–0,6 мм.
- 2) Matriflex Direct — более толстая и плотная мембрана, толщиной 0,6–0,8 мм.
- 3) Matriflex Correct — наиболее толстая мембрана, толщиной 1,2–1,6 мм.
- 4) Mucoderm — мембраны толщиной 1,2–1,7 мм.

В качестве биологической модели использовали 6 самцов кроликов породы шиншилла массой 3,0–3,5 кг.

Перед операцией животным осуществляли премедикацию медитином и седацию пропофолом, вводили

внутримышечно антибактериальный препарат Байтрил (0,2 мг/кг). Под общим обезболиванием проводили дополнительные инъекции инфильтрационной анестезии в полости рта артикаином без вазоконстриктора и обработку места вмешательства 0,05%-ным водным раствором хлоргексидина. Также в процессе операции проводили обезболивание внутривенно кетопрофеном (3 мг/кг).

Образцы коллагеновых материалов непосредственно перед имплантацией извлекали из стерильной упаковки и обрезали до размера 5×10 мм с использованием стерильных ножниц и пародонтологического градуированного зонда по стерильному шаблону. Это требовалось для полноценного перекрытия дефекта. Также для оптимальной пластичности материалов, в соответствии с инструкцией по применению, их смачивали в стерильном физиологическом растворе под контролем секундомера: Fibro и Direct — до 5 секунд, Correct — 15 секунд, Mucoderm — 20 секунд.

Операция проводилась одним и тем же врачом у всех животных. В ходе манипуляций в полости рта у каждого кролика формировали 4 подслизистых кармана. В начале операции проводили вертикальный разрез слизистой верхней челюсти в проекции альвеолярного гребня

с вестибулярной стороны, для этого контролировали отступ в 5 мм с помощью градуированного зонда от шейки зубов 1.1 и 2.1. Таким образом, сформировав медиальные карманы, имплантаты поместили в таком порядке: слева — Correct, справа — Direct. После контроля гемостаза слизисто-надкостничные лоскуты укладывали без натяжения, ушивали полипропиленом 5.0/6.0. Еще 2 кармана были созданы за областями имплантации. Отступ составлял не менее 2 мм. Справа размещали мембрану Fibro, слева — контрольную мембрану Mucoderm. Сам процесс имплантации и ушивания был аналогичным. Таким образом, у каждого животного создавали 4 подслизистых кармана (рис. 1).

В послеоперационном периоде в течение 7 суток проводили питание животных размягченным кормом, а также внутримышечно обезболивающую и антибактериальную терапию в течение 3–5 дней.

Контрольные осмотры проводили в условиях общего обезболивания через 7, 14 и 90 дней. При контрольных осмотрах проводили полуколичественную оценку выраженности отека и гиперемии тканей в области имплантации в баллах от 0 до 2 (где 0 — отсутствие отека,

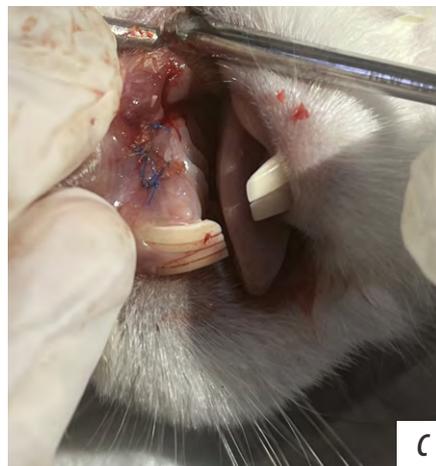


Рис. 1. Имплантация мембран: Matriflex Direct (A), Matriflex Fibro (B), Matriflex Correct (C) и сравнительной мембраны Mucoderm (D)

Fig. 1. Membrane implantation: Matriflex Direct (A), Matriflex Fibro (B), Matriflex Correct (C), and comparative Mucoderm membrane (D)

а 2 — умеренный отек мягких тканей или умеренная гиперемия).

Выведение животных их эксперимента производили на 14-е (3 животных) и 90-е сутки (3 животных).

В качестве критерия оценки увеличения объема мягких тканей в области имплантации использовали толщину мягких тканей, измеряемую стоматологическим микрометром. Измерение проводили перед созданием операционных ран в планируемых областях операционного вмешательства, а также при контрольных осмотрах в областях вмешательства на 14-е и 90-е сутки.

Для оценки биодеградации и биосовместимости материалов проводили гистологическое исследование областей их имплантации. Непосредственно после выведения животных из эксперимента выполняли забор мягких тканей из областей имплантации, для этого рассекали мягкие ткани со стороны преддверия полости рта и губы с переходом на твердое нёбо (до 1 мм). От каждого животного таким образом было получено 4 биобразца, которые выглядели как полнослойные лоскуты с их полным отделением от кости. Полученные лоскуты фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине по стандартной методике, заливали в парафиновые блоки в строгой ориентации, обеспечивающей получение срезов в перпендикулярной поверхности десны плоскости. При помощи микротома получали срезы толщиной 3–4 мм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом по Маллори.

Оценку тканей проводили методом стандартной оптической микроскопии. Полуколичественно оценивали наличие признаков воспаления (воспалительная инфильтрация, инфильтрация нейтрофилами и инфильтрация гигантскими многоядерными клетками инородных тел (ГМКИТ), экссудация, наличие бактериальных колоний) и регенерации (неоангиогенез, зрелость новообразованной ткани) по 4-балльной шкале (где 0 — отсутствие признака, 3 — максимальная выраженность признака).

При статистической обработке данных значимость межгрупповых различий оценивали при помощи критерия Краскелла—Уоллиса с последующим попарным сравнением групп по Данну. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полуколичественная оценка состояния областей имплантации стоматологических материалов, проводимая в ходе контрольных осмотров, выявила незначительную гиперемию (1 балл) у всех животных независимо от типа имплантата на 7-е сутки после оперативного вмешательства. На 14-е и последующие сутки отметили полное нивелирование гиперемии

в области имплантации всех мембран у всех животных (0 баллов).

Медианная оценка выраженности отека на 7-е сутки составила 1 балл (незначительный отек) во всех экспериментальных группах. В областях имплантации Fibro и Direct нивелирование отека происходило уже на 14-е сутки, тогда как в группах Correct и Mucoderm незначительный отек сохранялся на 14-е сутки, полностью исчезая на 30-е сутки после проведения операций.

Толщина мягких тканей десны в планируемых областях имплантации непосредственно перед проведением оперативного вмешательства находилась в диапазоне 5–7 мм при медианном значении 6,5 мм. На 14-е сутки после операций во всех областях имплантации было выявлено увеличение значения данного показателя: в группах Fibro и Direct медианное значение толщины составило 10 мм, тогда как в группах Correct и Mucoderm — 12 мм. На 90-е сутки толщина мягких тканей в местах имплантации Fibro и Direct не подвергалась существенным изменениям по сравнению с предыдущим экспериментальным сроком — медианные значения показателя составили 10 и 11 мм соответственно. В то же время в областях введения Correct и Mucoderm было выявлено дальнейшее увеличение толщины мягких тканей, составившей 15 мм у всех животных данных групп (рис. 2).

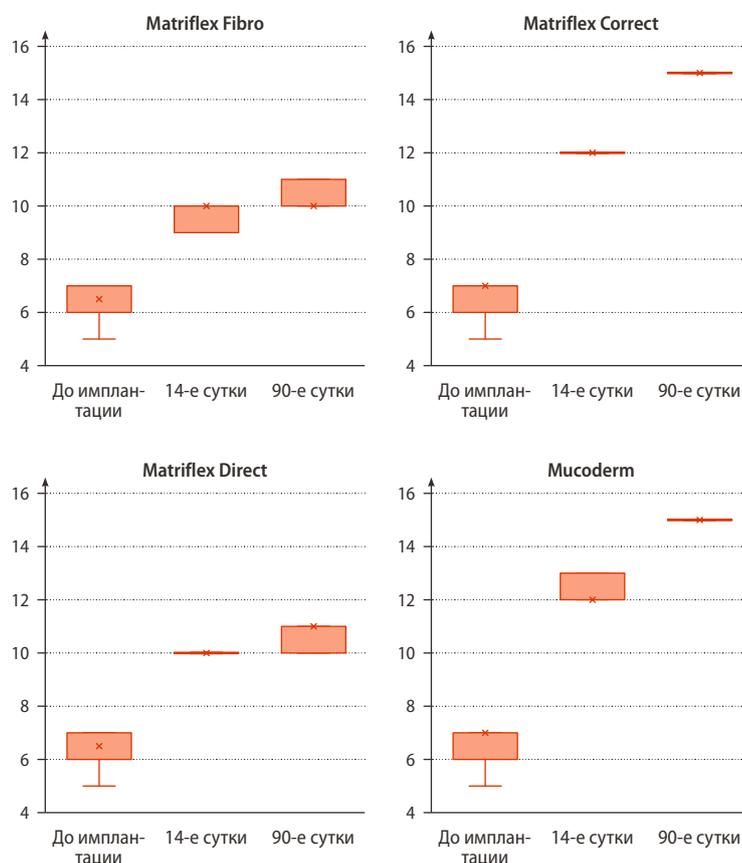


Рис. 2. Диаграмма размаха толщины мягких тканей в областях имплантации стоматологических материалов

Fig. 2. Box and whisker plots of soft tissue thickness in areas of implantation of dental materials

Гистологическое исследование тканей в областях имплантации

Fibro, 14-е сутки: в области имплантации материала присутствовали разрыхленные волокна материала, имеющие сетчатую ориентацию и морфологически напоминающие нативный матрикс собственной пластинки (рис. 3А, В). Волокна материала были окружены незрелой соединительной тканью. Воспалительная инфильтрация практически полностью отсутствовала. В области имплантации наблюдались выраженные пролиферативные изменения, определялось небольшое число сформированных вертикальных сосудистых петель.

Fibro, 90-е сутки: в участке имплантации определялась зрелая соединительная ткань, содержащая толстые разрозненные пучки коллагеновых волокон (рис. 3С, D). Тканевая реакция и воспалительные изменения отсутствовали. Материал имплантата не определялся.

Direct, 14-е сутки: в участке имплантации определялись толстые пучки волокон материала, имеющие сетчатую организацию. Имплантат окружен незрелой соединительной тканью, в которой наблюдалась интенсивная пролиферативная реакция. В соединительной ткани обнаруживались толстые слои фибробластов, находящиеся во внеклеточном матриксе, состоящем из разрыхленных толстых пучков коллагеновых волокон. Между группами фибробластов присутствовали клетки воспалительного инфильтрата и новообразованные

сосуды (рис. 4А, В). Под эпителием обнаруживалась диффузная инфильтрация нейтрофилами.

Direct, 90-е сутки: в области имплантации присутствовала зрелая соединительная ткань, волокнистый внеклеточный матрикс которой был образован коллагеновыми волокнами нормальной толщины, имеющими сетчатую архитектуру (рис. 4С, D). Воспалительные изменения полностью отсутствовали. Материал имплантата в участке имплантации не определялся.

Correct, 14-е сутки: в области имплантации присутствовал материал, образованный переплетающимися коллагеновыми волокнами. Имплантат окружен незрелой соединительной тканью, содержащей высокое количество новообразованных сосудов (рис. 5А, В). В областях, примыкающих к имплантату, наблюдалась пролиферативная реакция. Также были выявлены признаки воспалительных изменений: отек, воспалительная инфильтрация, а также отдельные участки нейтрофильной реакции с наличием бактериальных колоний.

Correct, 90-е сутки: в области имплантации определялась плотная соединительная ткань, содержащая разнонаправленно ориентированные фибриллы и тонкие волокна коллагена, которые не имели признаков организации, характерной для полностью зрелой соединительной ткани (рис. 5С, D). Воспалительные изменения не были выражены. Имплантированный материал не выявлялся в виде оформленной мембраны и был полностью резорбирован или же частично стал

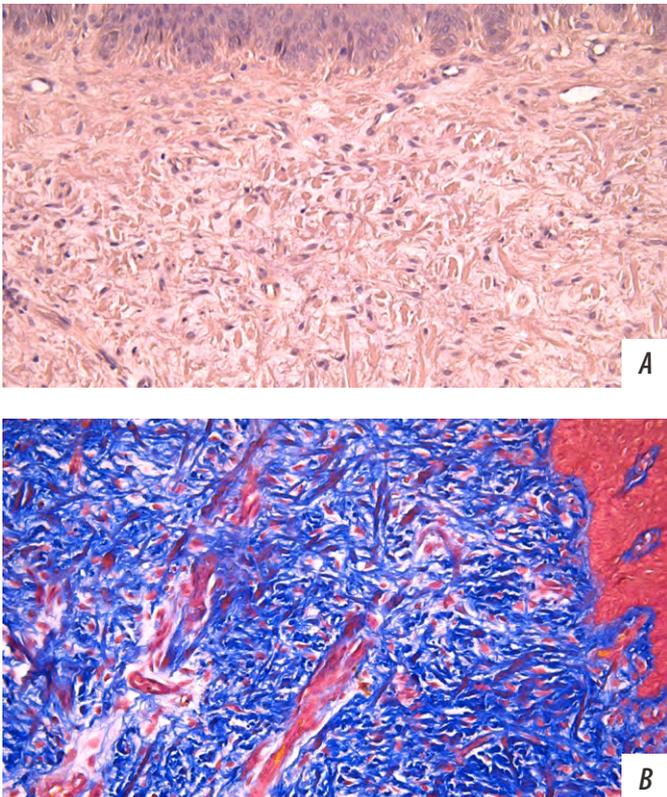


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов участков имплантации Matriflex Fibro на 14-е (А, В) и 90-е (С, D) сутки после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином (А, С) и по Массону (В, D), ув. 200

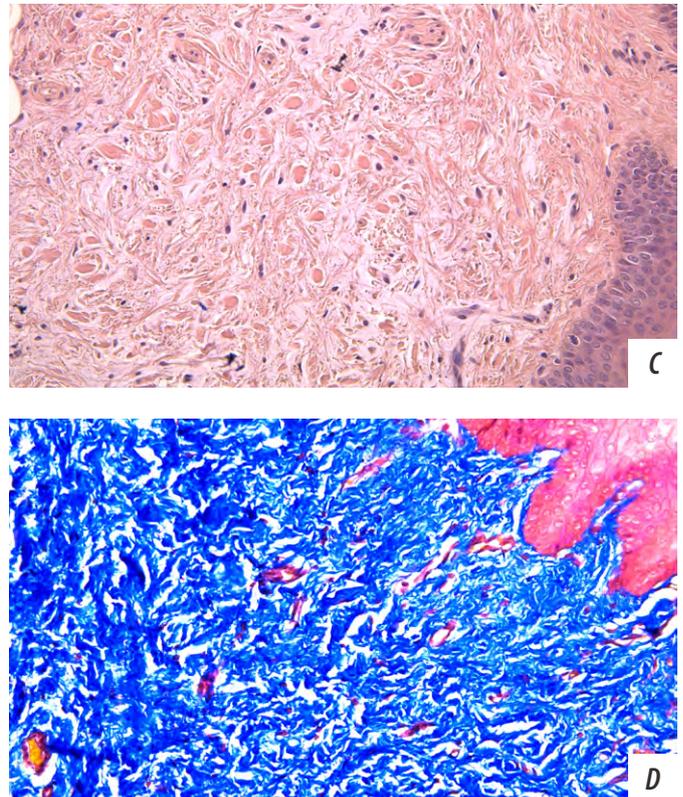


Fig. 3. Microphotographs of histological samples of Matriflex Fibro implantation sites on the 14th (A, B) and 90th (C, D) days after implantation. Hematoxylin and eosin (A, C) and Masson (B, D) staining, mag. 200x

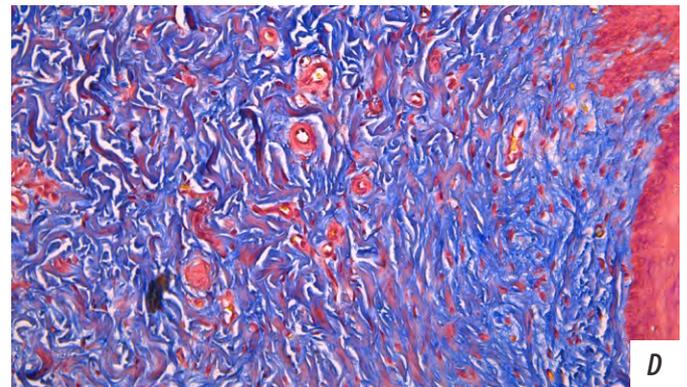
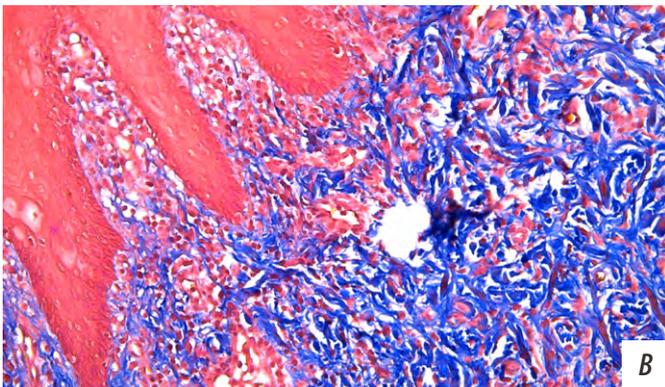
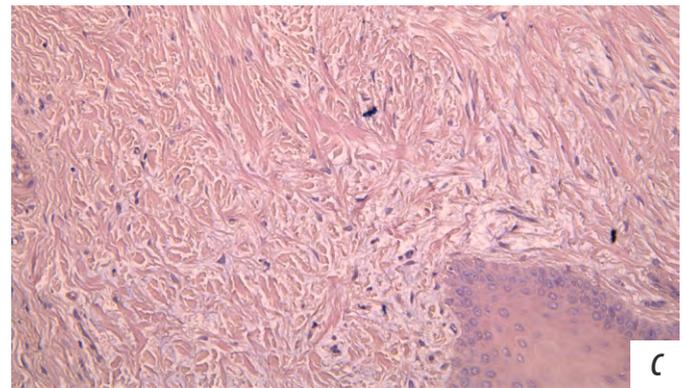
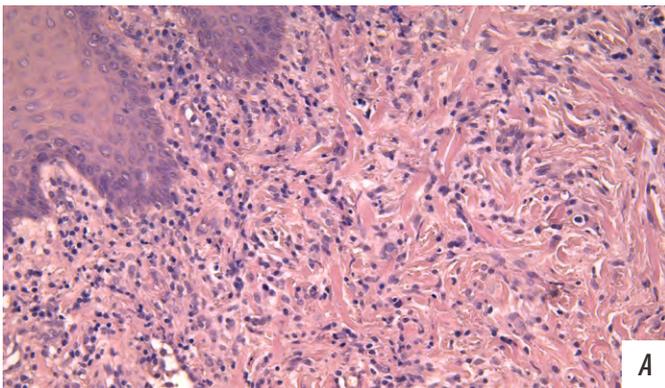


Рис. 4. Микрофотографии гистологических препаратов участков имплантации Matriflex Direct на 14-е (A, B) и 90-е (C, D) сутки после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином (A, C) и по Массону (B, D), ув. 200

Fig. 4. Microphotographs of histological samples of Matriflex Direct implantation sites on the 14th (A, B) and 90th (C, D) days after implantation. Staining with hematoxylin and eosin (A, C) and Masson (B, D), mag. 200x

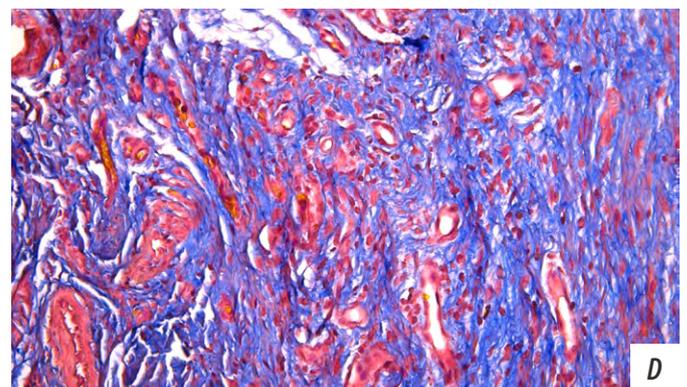
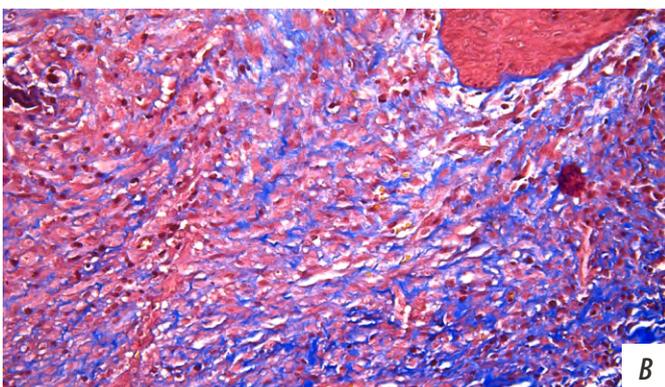
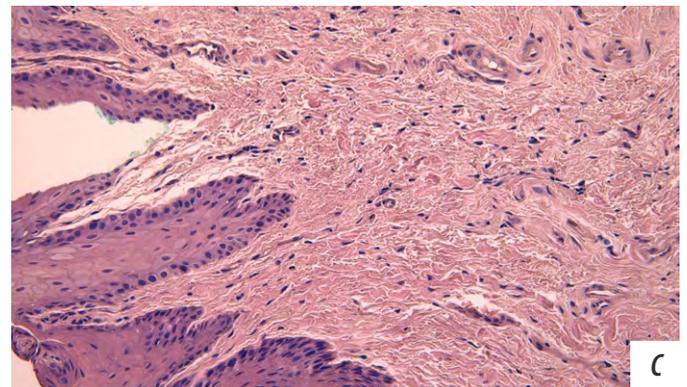
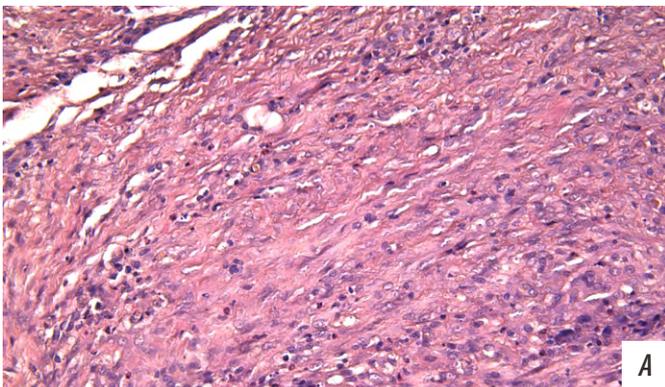


Рис. 5. Микрофотографии гистологических препаратов участков имплантации Matriflex Correct 14-е (A, B) и 90-е (C, D) сутки после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином (A, C) и по Массону (B, D), ув. 200

Fig. 5. Microphotographs of histological samples of Matriflex Correct implantation sites on the 14th (A, B) and 90th (C, D) days after implantation. Hematoxylin and eosin (A, C) and Masson (B, D) staining, mag. 200x

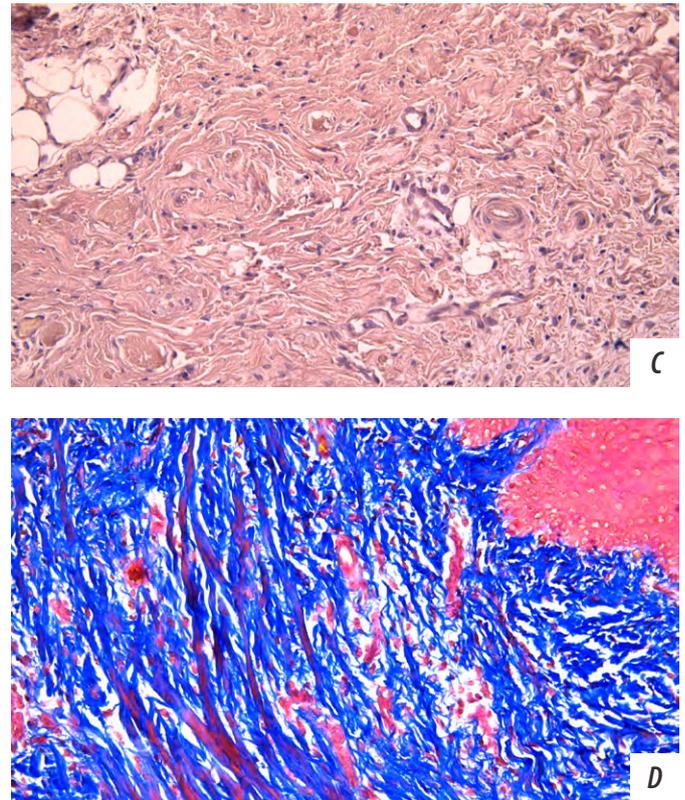
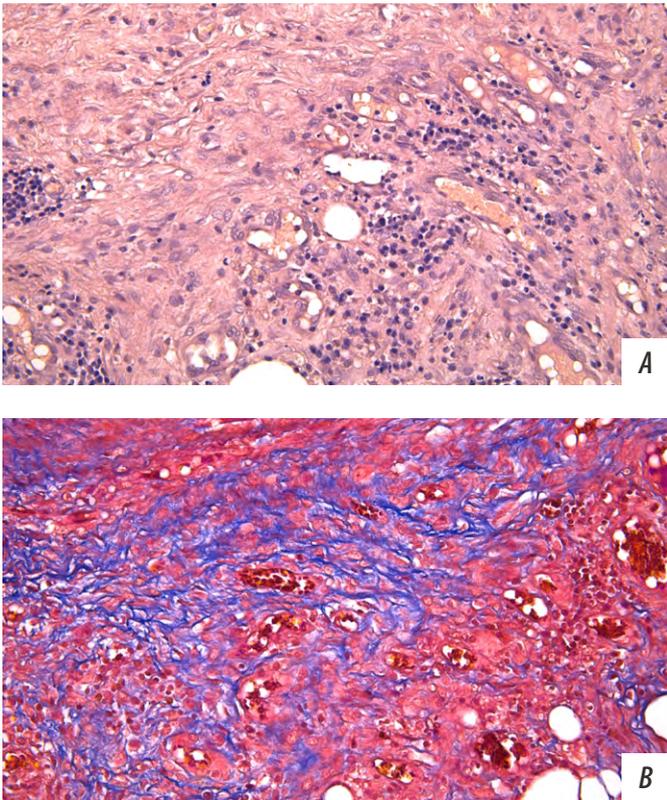


Рис. 6. Микрофотографии гистологических препаратов участков имплантации Mucoderm 14-е (A, B) и 90-е (C, D) сутки после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином (A, C) и по Массону (B, D), ув. 200

Fig. 6. Microphotographs of histological samples of Mucoderm implantation sites on the 14th (A, B) and 90th (C, D) days after implantation. Hematoxylin and eosin (A, C) and Masson (B, D) staining, mag. 200x

провизионным матриксом для растущей фибротической соединительной ткани.

Mucoderm, 14-е сутки: в области имплантации выявлялся материал, полностью проросший незрелой соединительной (грануляционной) тканью, волокнистый внеклеточный матрикс которой представлен преимущественно тонкими коллагеновыми фибриллами (рис. 6A, B). На периферии имплантата присутствовало большое количество грануляционной ткани с новообразованными сосудами. Выявлены признаки воспалительных изменений: наличие воспалительной инфильтрации, включающей преимущественно нейтрофилы и редкие одиночные ГМКИТ, умеренную экссудацию.

Mucoderm, 90-е сутки: в области имплантации присутствовала незрелая соединительная ткань, волокнистый внеклеточный матрикс которой образован волокнами коллагена, имеющими сетчатую архитектуру (рис. 6C, D). Воспалительная инфильтрация и другие воспалительные изменения отсутствовали. Материал имплантата не определялся по структуре волокон или тинкториальным свойствам.

Количественное гистологическое исследование тканей области имплантации

Результаты полуколичественной оценки показателей воспаления и регенерации в области имплантации стоматологических материалов находились в соответствии с данными качественного гистологического анализа, приведенными в предыдущем разделе. Было выявлено, что на 14-е сутки медианные значения показателей воспалительной и нейтрофильной инфильтрации, а также

Показатели полуколичественного гистологического анализа областей имплантации стоматологических материалов на 14-е сутки после операции (в баллах, от 0 до 4)

Indicators of semi-quantitative histological analysis of areas of implantation of dental materials on the 14th day after surgery (in points, from 0 to 4)

Показатель	Fibro		Direct		Correct		Mucoderm	
	14 дней	90 дней						
Воспалительная инфильтрация	0 (0; 1)	0 (0; 0)	1 (1; 3)	0 (0; 0)	2 (2; 2)	0 (0; 3)	3 (2; 3)	0 (0; 0)
Нейтрофилы	0 (0; 0)	0 (0; 0)	1 (0; 3)	0 (0; 0)	3 (2; 3)	0 (0; 3)	3 (2; 3)	0 (0; 0)
ГМКИТ	0 (0; 2)	0 (0; 0)	0 (0; 1)	0 (0; 0)	0 (0; 1)	0 (0; 1)	0 (0; 1)	0 (0; 0)
Экссудация	1 (0; 1)	0 (0; 0)	0 (0; 3)	0 (0; 0)	3 (2; 3)	0 (0; 2)	2 (1; 3)	0 (0; 0)
Бактериальные колонии	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	3 (2; 3)	0 (0; 3)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
Неоангиогенез	1 (1; 2)	0 (0; 2)	1 (1; 2)	1 (1; 1)	2 (1; 2)	1 (0; 1)	3 (2; 3)	1 (1; 1)
Зрелость новообразованной ткани	1 (1; 1)	3 (3; 3)	1 (1; 1)	3 (3; 3)	1 (1; 1)	2 (2; 2)	1 (1; 1)	1 (1; 1)

Примечание: данные представлены в виде Me (Q₁; Q₃).

экссудации в группах Correct и Mucoderm были выше, нежели у Direct и Fibro. Различия в медианных величинах оценок ангиогенеза между группами были аналогичны. В то же время анализ показал низкую зрелость новообразованной соединительной ткани во всех группах (медианное значение 1 балл; см. таблицу).

Анализ образцов на 90-е сутки после оперативного вмешательства показал нивелирование показателей воспаления во всех группах, что выразилось в величине всех медианных значений, равной 0 баллов. В группах Direct, Correct и Mucoderm показано наличие слабовыраженного новообразования сосудов на данном экспериментальном сроке (медианное значение — 1 балл). Также выявлена большая величина медианной оценки зрелости новообразованной соединительной ткани в области имплантации образцов Fibro и Direct (3 балла) по сравнению с группами Correct (2 балла) и Mucoderm (1 балл).

ОБСУЖДЕНИЕ

Накопленные в настоящее время клинические данные свидетельствуют о том, что коллаген является эффективным материалом для восстановления объема мягких тканей в ротовой полости. Данный белок обладает низкой иммуногенностью, высокой биосовместимостью, способностью поддерживать адгезию и миграцию клеток соединительной ткани, включая фибробласты десны и периодонтальной связки [10, 12]. Несмотря на то что в литературе есть данные о том, что эффективность применения коллагеновых материалов может быть сопоставима с аутотрансплантационным методом увеличения мягких тканей [13] или несколько уступать ему [14], их несомненным преимуществом является существенное уменьшение травматичности вмешательства в полости рта и, как следствие, уменьшение болевых ощущений, испытываемых пациентом [2]. Также, в отличие от аллотрансплантатов, коллагеновые материалы могут быть всегда произведены в достаточном количестве для клинического применения, а также быть стандартизованы по показателям качества.

Эффективность операционного вмешательства при использовании стоматологических имплантируемых материалов во многом находится в зависимости от их физико-химических и биологических свойств, а также от биосовместимости. Ранее в доклинических исследованиях материала, состоящего из очищенного коллагена, происходящего из дермы свиньи, было показано, что при имплантации в мягкие ткани данный материал подвергается практически полной биодеградации в течение 4-х недель, что сопровождается активацией процесса неангиогенеза с его последующим полным замещением новообразованной аутологичной соединительной тканью [10]. В дальнейшем данный материал под торговой маркой Mucoderm продемонстрировал клиническую эффективность в процедурах аугментации мягких тканей десны [15, 16] и стал широко применяться в клинической практике.

В настоящей работе проведено исследование биологических свойств нового отечественного стоматологического материала Matriflex изготовленного из ксеногенного коллагена дермы кожи крупного рогатого скота. В качестве материала сравнения использовали Mucoderm из коллагена кожи свиньи. Работа проведена с целью подробного изучения эффективности, биодеградации и биосовместимости. Ранее подобные сравнительные анализы проводились для изучения иных материалов [10, 17].

Проведенный анализ толщины тканей десны показал, что все исследованные материалы вызывали увеличение объема мягких тканей в области их имплантации. При этом выраженность аугментации при имплантации более тонких коллагеновых мембран, а именно — Fibro и Direct, была постоянной как на 14-е, так и на 90-е сутки после оперативного вмешательства. В то же время коллагеновые материалы большей толщины — Correct и сравнительный материал Mucoderm, характеризовались положительной динамикой увеличения объема мягких тканей на 14-е и 90-е сутки при сходных величинах измеряемого показателя.

В результате качественного гистологического исследования образцов было выявлено, что все коллагеновые мембраны подверглись существенной или полной биодеградации к 90-м суткам после операции. При этом биодеградация сопровождалась формированием в областях имплантации аутологичной новообразованной соединительной ткани, что свидетельствует в пользу того, что коллагеновые материалы в ходе резорбции выступали в качестве провизионного матрикса. Была отмечена большая интенсивность неангиогенеза в областях имплантации Correct и Mucoderm по сравнению с Fibro и Direct на 14-е сутки. Тогда как на 90-е сутки наблюдалась большая зрелость аутологичной соединительной ткани в областях имплантации мембран Fibro и Direct по сравнению с Correct и Mucoderm.

Сопоставляя данные прямых макроскопических измерений тканей и гистологического исследования, мы предполагаем, что основной долговременный эффект увеличения объема мягких тканей десны при применении исследуемых материалов реализуется за счет формирования аутологичной соединительной ткани, замещающей биодеградирующие волокна имплантированного коллагена. При этом объем аутологичной ткани и продолжительность ее формирования в значительной степени зависят от толщины имплантированной мембраны (и, как следствие, от количества вводимого коллагена на единицу площади ткани). Большая зрелость соединительной ткани на заключительной точке эксперимента в области имплантации более тонких мембран (Fibro и Direct), вероятно, обусловлена более быстрым завершением процесса резорбции и, соответственно, новообразования ткани, в результате чего молодая соединительная ткань раньше переходит к процессу созревания. В то же время процесс формирования соединительной ткани в области введения более толстых мембран (Correct и Mucoderm) протекает более

продолжительно, что выражается в росте измеряемой толщины тканей десны вплоть до 90-х суток эксперимента. Имплантация мембран Correct и Mucoderm также сопровождается усилением процесса неангиогенеза, что, по-видимому, отражает более интенсивное новообразование соединительной ткани, поскольку известно, что формирование нового внеклеточного коллагенового матрикса требует повышенного снабжения ткани кислородом [18]. Полученные результаты согласуются с данными литературы, в которой была описана интенсификация неангиогенеза в области имплантации материала Mucoderm in vivo в модели подкожной имплантации у крыс [10].

Количественное гистологическое исследование выявило более выраженные признаки воспаления в областях имплантации мембран Correct и Mucoderm на 14-е сутки эксперимента по сравнению с материалами Fibro и Direct: была повышена лейкоцитарная, в частности нейтрофильная, инфильтрация, а также уровень эксудации. Полученные данные подтверждались результатами макроскопического наблюдения, в ходе которого был зафиксировано наличие слабой отечности тканей на данном сроке. Наличие нейтрофильной инфильтрации на 14-е сутки было выявлено в области введения материала Direct. На 90-е сутки признаки воспаления отсутствовали во всех экспериментальных группах.

Ранее в работах других авторов тоже было описано наличие нейтрофильной инфильтрации на 14-сутки в области имплантации материала Mucoderm [10], а также других коллагеновых материалов [4]. Известно, что в асептических условиях воспалительная реакция, которая предшествует пролиферативным явлениям, является острой и в норме длится в среднем 3 дня. За этот период времени нейтрофилы полностью замещаются мононуклеарными клетками [17]. С другой стороны, наличие нейтрофильной инфильтрации в большинстве случаев свидетельствует о бактериальной контаминации области имплантации или регенерации. Опубликованные данные свидетельствуют о том, что коллагеновые материалы обладают высокой чувствительностью к адгезии и колонизации бактериями, что является существенным фактором риска при их клиническом применении [19, 20]. В частности, применение резорбируемых коллагеновых мембран требует тщательного укрывания местными мягкими тканями в связи с потенциальной контаминацией представителями условно-патогенной микрофлоры полости рта поверхности мембраны

с последующим негативным влиянием на область устранимого дефекта, начиная со снижения скорости регенерации в области раны и заканчивая развитием гнойно-воспалительных осложнений [9].

В связи с вышеизложенным мы предполагаем, что наблюдаемые на первом экспериментальном сроке (14 суток) воспалительные изменения обусловлены бактериальной контаминацией образцов материалов, неизбежно возникающей при их имплантации вследствие сильной обсемененности полости рта лабораторных животных. В пользу этого предположения свидетельствует обнаружение бактериальных колоний в области имплантации части образцов. Большая выраженность воспалительных изменений у мембран большей толщины (Correct и Mucoderm), вероятно, может быть обусловлена повышенной подверженностью контаминации вследствие более трудоемкой процедуры их подслизистой имплантации. При этом отсутствие воспалительных изменений на 90-е сутки говорит о подавлении локальной инфекции и свидетельствует в пользу биосовместимости исследуемых материалов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования на модели in vivo подтверждают способность стоматологических материалов на основе дермального коллагена эффективно увеличивать объем мягких тканей десны. При этом долговременный эффект аугментации реализуется за счет формирования аутологичной соединительной ткани в процессе резорбции данных материалов. Все исследованные коллагеновые мембраны подвергаются существенной или полной биодеградации в течение 90 суток после имплантации, биосовместимы. Биодеградация материалов сопровождается процессом неангиогенеза в зоне введения. Наиболее выраженное увеличение объема мягких тканей и интенсивность неангиогенеза наблюдаются в области имплантации мембран, имеющих большую толщину, — Correct и Mucoderm.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 30.12.2023 **Принята в печать:** 18.05.2024

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 30.12.2023 **Accepted:** 18.05.2024

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Toledano M., Toledano-Osorio M., Carrasco-Carmona Á., Vallecillo C., Lynch C.D., Osorio M.T., Osorio R. State of the art on biomaterials for soft tissue augmentation in the oral cavity. Part I: Natural polymers-based biomaterials. — *Polymers (Basel)*. — 2020; 12 (8): 1850. [PMID: 32824697](#)
2. Vallecillo C., Toledano-Osorio M., Vallecillo-Rivas M., Toledano M., Rodriguez-Archilla A., Osorio R. Collagen matrix vs. autogenous

connective tissue graft for soft tissue augmentation: A systematic review and meta-analysis. — *Polymers (Basel)*. — 2021; 13 (11): 1810. [PMID: 34072698](#)

3. Wolff J., Farré-Guasch E., Sándor G.K., Gibbs S., Jager D.J., Forouzanfar T. Soft tissue augmentation techniques and materials used in the oral cavity: An overview. — *Implant Dent.* — 2016; 25 (3): 427—34. [PMID: 26840271](#)

4. Тарасенко С.В., Благушина Н.А. Гистологическая оценка использования биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии раневых дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте. — *Вятский медицинский вестник*. — 2022; 1 (73): 67—75.
[Tarasenko S.V., Blagushina N.A. Experimental histological evaluation of bioresorbable collagen membrane use in surgical oral mucosal defects. — *Medical Newsletter of Vyatka*. — 2022; 1 (73): 67—75 (In Russian)]. [eLibrary ID: 48112438](#)
5. Preidl R.H.M., Reichert S., Coronel T.V., Kesting M., Wehrhan F., Schmitt C.M. Free gingival graft and collagen matrix revascularization in an enoral open wound situation. — *J Oral Maxillofac Surg*. — 2021; 79 (5): 1027—1037. [PMID: 33450192](#)
6. Дьячкова Е.Ю., Тарасенко С.В., Дыдыкин С.С. Хирургическое лечение пациентов с хроническим перфоративным гайморитом с применением различных форм ксеногенного материала на основе коллагена. — *Медицинский вестник Северного Кавказа*. — 2019; 4: 628—630.
[Diachkova E.Yu., Tarasenko S.V., Dydykin S.S. Surgical treatment of patients with perforated chronic maxillary sinusitis using different forms of collagen-based xenogenic material. — *Medical News of North Caucasus*. — 2019; 4: 628—630 (In Russian)]. [eLibrary ID: 42351288](#)
7. Мележечкина И.А., Атрушкевич В.Г., Берченко Г.Н. Сравнительная морфологическая оценка качества биоинтеграции сшитых и несшитых ксеногенных материалов. — *Пародонтология*. — 2022; 4: 288—297.
[Melezhechkina I.A., Atrushkevich V.G., Berchenko G.N. Comparative morphological assessment of crosslinked and non-crosslinked xenograft biointegration quality. — *Parodontologiya*. — 2022; 4: 288—297 (In Russian)]. [eLibrary ID: 50006336](#)
8. Tarasenko S., Ashurko I., Taschieri S., Repina S., Esaya N A., Corbella S. Comparative analysis of methods to increase the amount of keratinized mucosa before stage-two surgery: a randomized controlled study. — *Quintessence Int*. — 2020; 51 (5): 374—387. [PMID: 32159530](#)
9. Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л. Особенности применения барьерных мембран в условиях микробной контаминации операционных ран полости рта. — *Стоматолог. Минск*. — 2018; 2 (29): 87—89.
[Rachkov A.A., Shevela T.L., Evtuhov V.L. Specific features of using barrier membranes in conditions of microbial contamination of surgical wounds in oral cavity. — *Dentist (Minsk)*. — 2018; 2 (29): 87—89 (In Russian)]. [eLibrary ID: 35167008](#)
10. Rothamel D., Benner M., Fienitz T., Happe A., Kreppel M., Nickenig H.J., Zöller J.E. Biodegradation pattern and tissue integration of native and cross-linked porcine collagen soft tissue augmentation matrices — an experimental study in the rat. — *Head Face Med*. — 2014; 10: 10. [PMID: 24670219](#)
11. Barbeck M., Lorenz J., Kubesch A., Böhm N., Booms P., Choukroun J., Sader R., Kirkpatrick C.J., Ghanaati S. Porcine dermis-derived collagen membranes induce implantation bed vascularization via multinucleated giant cells: A physiological reaction? — *J Oral Implantol*. — 2015; 41 (6): e238—51. [PMID: 25546240](#)
12. Khan R., Khan M.H. Use of collagen as a biomaterial: An update. — *J Indian Soc Periodontol*. — 2013; 17 (4): 539—42. [PMID: 24174741](#)
13. Lissek M., Boeker M., Happe A. How thick is the oral mucosa around implants after augmentation with different materials: A systematic review of the effectiveness of substitute matrices in comparison to connective tissue grafts. — *Int J Mol Sci*. — 2020; 21 (14): 5043. [PMID: 32708901](#)
14. Cairo F., Barbato L., Selvaggi F., Baielli M.G., Piattelli A., Chambrone L. Surgical procedures for soft tissue augmentation at implant sites. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. — *Clin Implant Dent Relat Res*. — 2019; 21 (6): 1262—1270. [PMID: 31729830](#)
15. Vincent-Bugnas S., Borie G., Charbit Y. Treatment of multiple maxillary adjacent class I and II gingival recessions with modified coronally advanced tunnel and a new xenogeneic acellular dermal matrix. — *J Esthet Restor Dent*. — 2018; 30 (2): 89—95. [PMID: 28901687](#)
16. Puisys A., Zukauskas S., Kubilius R., Barbeck M., Razukevicius D., Linkevičienė L., Linkevičius T. Clinical and histologic evaluations of porcine-derived collagen matrix membrane used for vertical soft tissue augmentation: A case series. — *Int J Periodontics Restorative Dent*. — 2019; 39 (3): 341—347. [PMID: 30986283](#)
17. Neto A.M.D., Sartoretto S.C., Duarte I.M., Resende R.F.B., Neves Novellino Alves A.T., Mourão C.F.A.B., Calasans-Maia J., Montemezzi P., Tristão G.C., Calasans-Maia M.D. In vivo comparative evaluation of biocompatibility and biodegradation of bovine and porcine collagen membranes. — *Membranes (Basel)*. — 2020; 10 (12): 423. [PMID: 33333940](#)
18. Guo S., Dipietro L.A. Factors affecting wound healing. — *J Dent Res*. — 2010; 89 (3): 219—29. [PMID: 20139336](#)
19. Sela M.N., Babitski E., Steinberg D., Kohavi D., Rosen G. Degradation of collagen-guided tissue regeneration membranes by proteolytic enzymes of *Porphyromonas gingivalis* and its inhibition by antibacterial agents. — *Clin Oral Implants Res*. — 2009; 20 (5): 496—502. [PMID: 19302237](#)
20. Lazarevic M., Petrovic S., Pierfelice T.V., Ignjatovic N., Piattelli A., Vljajc Tovilovic T., Radunovic M. Antimicrobial and osteogenic effects of collagen membrane decorated with chitosan-nano-hydroxyapatite. — *Biomolecules*. — 2023; 13 (4): 579. [PMID: 37189328](#)