

Сравнительная морфологическая оценка качества биоинтеграции сшитых и несшитых ксеногенных материалов

И.А. Мележечкина¹, В.Г. Атрушкевич¹, Г.Н. Берченко²

¹Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

²Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Применение аутотрансплантатов сегодня является золотым стандартом для аугментации мягких тканей и закрытия рецессий десны. Однако, учитывая ряд существенных недостатков этого метода, в стоматологической практике все чаще используются ксеногенные материалы различного происхождения. Целью нашего исследования явилось проведение сравнительной морфологической оценки качества биоинтеграции сшитых и несшитых ксеногенных материалов на различных сроках заживления.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 108 крысах линии Wistar (54 самца, 6 месяцев, жировой массой 462 ± 20 г; 54 самки 6 месяцев, жировой массой 414 ± 7 г), случайным образом разделенных на три группы: 1-я группа – в область поднадкостничного тоннеля, сформированного в области преддверия полости рта на нижней челюсти, имплантировали ксеногенный коллагеновый матрикс (Mucograft), 2-я группа – в область поднадкостничного тоннеля имплантировали бесклеточную дермальную коллагеновую матрицу (Mucoderm), 3-я группа – в область поднадкостничного тоннеля имплантировали сшитый ферментами D-рибозы ксеногенный материал (Ossix Volumax).

Результаты. Используемые в исследовании ксеногенные материалы показали различную степень интеграции и биодеградации. К 7-м суткам после имплантации материала наиболее выраженная воспалительная реакция наблюдалась в 1-й группе (Mucograft). К 30-м суткам наблюдения несшитые коллагеновые материалы почти полностью резорбировались, в то время как сшитая коллагеновая матрица определялась в виде гомогенных масс. К 90-м суткам наблюдения во всех группах в области операции наблюдалось формирование новой соединительной ткани с различными функциональными свойствами, и только в 3-й группе гистологически определялись микрофрагменты имплантированного материала.

Закключение. Данное исследование демонстрирует, что использование ксеногенных сшитых и несшитых коллагеновых мембран может в разной степени способствовать увеличению толщины мягких тканей, однако необходимо совершенствовать имеющиеся материалы для достижения результатов, сопоставимых с использованием аутогенных мягкотканых трансплантатов.

Ключевые слова: ксеногенные материалы, аугментация десны, коллагеновые матрицы.

Для цитирования: Мележечкина ИА, Атрушкевич ВГ, Берченко ГН. Сравнительная морфологическая оценка качества биоинтеграции сшитых и несшитых ксеногенных материалов. *Пародонтология*. 2022;27(4):288-297. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2022-27-4-288-297>.

Comparative morphological assessment of crosslinked and non-crosslinked xenograft biointegration quality

I.A. Melezhechkina¹, V.G. Atrushkevich¹, G.N. Berchenko²

¹A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

²National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics named after N. N. Priorov, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Relevance. Autografts are nowadays the gold standard for soft tissue augmentation and gingival recession coverage. However, as this method has a number of significant disadvantages, xenografts of various origins are more frequently used in dental practice. The study aimed to conduct a comparative morphological assessment of cross-linked and non-crosslinked xenogenous scaffold biointegration quality at different healing times.

Materials and Methods. The study used 108 Wistar rats (54 males, six months old, fat mass 462 ± 20 ; 54 females, six months old, fat mass 414 ± 7) and randomly divided them into three groups. Group 1 had a xenogenous collagen matrix (Mucograft) placed in the subperiosteal tunnel in the mandibular vestibule area; Group 2 had an acellular dermal collagen matrix (Mucoderm) implanted in the subperiosteal tunnel, group 3 had D-ribose crosslinked xenogenous scaffold (Ossix Volumax) placed in the subperiosteal tunnel.

Results. The studied xenogenous materials showed different integration and biodegradation extents. By postoperative day 7, Group 1 (Mucograft) showed a more pronounced inflammation. Non-crosslinked collagen materials had almost completely resorbed by the 30th day of observation, while a crosslinked collagen matrix was detected as homogenous masses. By the 90th day, all groups demonstrated the formation of new connective tissue with different functional characteristics; only Group 3 histologically revealed microfragments of the graft.

Conclusion. The study shows that the xenogenous crosslinked and non-crosslinked collagen membranes may promote an increase in soft tissue thickness to a different extent. However, it is essential to improve the available materials to reach an outcome comparable to the autologous soft tissue graft treatment result.

Key words: xenografts, gingival augmentation, collagen matrices.

For citation: Melezhechkina IA, Atrushkevich VG, Berchenko GN. Comparative morphological assessment of crosslinked and non-crosslinked xenograft biointegration quality. *Parodontologiya*. 2022;27(4):288-297 (in Russ.). <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2022-27-4-288-297>.

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время на рынке доступны различные виды ксеногенных материалов: бесклеточные дермальные матрицы (ADM), двухслойные коллагеновые матрицы (CM) с плотной и пористой частью, производные эмалевого матрикса [1, 2]. Коллагеновые мембраны состоят в основном из коллагена I и III типов [3]. Коллаген для мембран получают из различных животных источников, в том числе из бычьего сухожилия, бычьей дермы, телячьей кожи или свиной дермы [4, 5]. После выделения и очищения при помощи ферментов или химической экстракции материал перерабатывают в различные формы.

Наряду с барьерной функцией в последние годы широкое применение получили резорбируемые коллагеновые мембраны для аугментации мягких тканей, производимые на основе коллагена животного происхождения, прошитые с использованием полисахарида, полигликолида, полилактида и их сополимеров [6, 7]. Это объясняется тем, что коллаген превосходит другие материалы в биосовместимости, тканевой интеграции, васкуляризации, стабильности объема и простоте использования в клинической практике [8-10]. В связи с этим применение ксеногенных коллагеновых матриц рассматривается в качестве допустимого альтернативного варианта лечения стандартным процедурам аутотрансплантации с использованием собственных тканей пациента [1].

Коллагеновые мембраны различаются по своей микроархитектуре (пространство между молекулами коллагена, пучками и отдельными волокнами, а также пучками и слоями внутри самой мембраны) и типу шивки. Микроархитектура и сшивание определяют характеристики мембраны, такие как сила на-

тяжения, простота применения, гибкость, тканевая интеграция, биodeградация [11]. Устойчивость коллагеновых фибрилл к деградации напрямую связана с плотностью межмолекулярных поперечных связей, поэтому основным недостатком нативного коллагена является его быстрая деградация за счет ферментативной активности макрофагов и полиморфно-ядерных лейкоцитов. Сшивание различными способами, включая ультрафиолетовое и гамма-излучение, прошивка химическими агентами увеличивают период деградации нативного коллагена, однако негативно влияют на биосовместимость материала [12]. Процесс сшивания материала представляет собой создание различных взаимных связей между определенными аминокислотами, а также между карбоксилатными группами и аминокислотами под воздействием физических и химических агентов.

Например, в качестве агента для этой цели используют альдегид, который уменьшает поглощение воды и влияет на способность к расплавлению, скорость деградации и стабильность самой мембраны [3, 13-16]. Однако исследования показали токсическое действие этого вида шивки, что ограничивает его применение.

Существует безопасный и клинически эффективный метод шивки на основе гликозилированного коллагена, полученный неферментативным гликозилированием нативных коллагеновых фибрилл для необратимого сшивания его полипептидных цепей. Сахара, используемые в качестве сшивающих агентов, особенно D-рибоза, являются нетоксичными и неиммуногенными. Сахар рибоза способен допустить неограниченную степень поперечного сшивания, обеспечивая коллагеновый барьер, который чрезвычайно устойчив к ферментативной деградации. Как показали клинические исследования, сши-

тые коллагеновые мембраны сохраняют целостность в течение более длительного времени, чем несшитые коллагеновые мембраны [17].

Сшивание также снижает *in vivo* скорость резорбции коллагенового материала и повышает механические характеристики. Было показано, что сшитые коллагеновые мембраны сохраняются от шести до восьми недель, тогда как несшитые мембраны теряют свою структурную целостность в течение семи дней [18]. Сшивание бычьего и свиного коллагена I и III типов, с одной стороны, увеличивает время биодеградации мембраны, а с другой стороны, способствует возникновению неблагоприятных реакций на инородное тело и снижает тканевую интеграцию и васкуляризацию [19]. В литературе описаны различные типы тканевых реакций на ксеногенные материалы, в том числе индукция мононуклеарных клеток, таких как моноциты, лимфоциты, макрофаги и фибробласты, а также признаки реакции инородного тела, характеризующейся образованием дополнительных многоядерных гигантских клеток [20, 21].

Кроме того, в барьерных мембранах степень перекрестного связывания отрицательно коррелирует с прикреплением и пролиферацией фибробластов периодонтальной связки остеобластических клеток, наблюдаемых в культурах *in vitro* [12], что связано с отсутствием соединения между поперечно сшитыми мембранами и соединительной тканью, а также с отсутствием васкуляризации мембран на раннем этапе заживления.

Несшитые мембраны, по мнению исследователей, обладают менее выраженным воспалительным ответом, что гипотетически связано с термической обработкой коллагена, но при обнажении мембраны данный материал менее устойчив в полости рта, что связано с наличием пародонтопатогенов, таких как *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola*, которые могут разрушать коллагеновые мембраны за счет связанных с клеточной мембраной протеаз, ответственных за деградацию, что было показано *in vitro*. Как сшитые, так и несшитые мембраны в равной степени подвергаются лизису под действием бактериальных протеаз, однако сшитые мембраны более устойчивы к протеолизу [22].

Ангиогенез положительно коррелирует со степенью сшивки мембраны, однако следует заметить, что васкуляризация также может способствовать деградации мембран, поскольку моноциты, проникая через стенку кровеносных сосудов, способны дифференцироваться в макрофаги. Кроме того, перекрестное сшивание коллагена задерживает трансмембранную васкуляризацию, которая является важным фактором при регенерации тканей [23].

Таким образом, можно сказать, что на сегодняшний день не существует определенного мнения в отношении использования ксеногенных материалов для аугментации десны, поэтому целью нашего исследования явилась сравнительная морфологическая оценка качества биоинтеграции сшитых и несшитых ксеногенных материалов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было проведено на базе ЦИТО им. Приорова г. Москвы на 108 лабораторных крысах линии Wistar (54 самца возрастом 6 месяцев, массой 462 ± 20 ; 54 самки возрастом 6 месяцев, массой 414 ± 7), распределенных на три группы: 1-я группа – в область поднадкостничного тоннеля полости рта в области резцов нижней челюсти проводилось введение несшитого ксеногенного материала Mucograft, 2-я группа – в область поднадкостничного тоннеля полости рта в области резцов нижней челюсти проводилось введение несшитого ксеногенного материала Mucoderm, 3-я группа – в область поднадкостничного тоннеля полости рта в области резцов нижней челюсти проводилось введение сшитого ферментами D-рибозы ксеногенного материала Ossix Volumax.

Животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)».

В качестве корма использовали стандартный гранулированный полнораціонный комбикорм для лабораторных животных, а также применяли водопроводную очищенную воду *ad libitum* в стандартных поилках.

Животных содержали в контролируемых условиях: температура воздуха поддерживалась в районе $22-24^{\circ}\text{C}$, относительная влажность составляла 60-70%. Животные содержались при естественном освещении. В комнатах содержания животных поддерживали 12-часовой цикл освещения.

Общее обезболивание у животных при проведении всех операций было обеспечено препаратом «Золетил-100» 3,5 мг и «Медитин» 0,3 мл. Перед операционным вмешательством была проведена антисептическая обработка полости рта крыс раствором Люголя и 0,05% раствором хлоргексидина.

Всем экспериментальным животным был проведен вертикальный разрез в области резцов нижней челюсти с последующим созданием поднадкостничного тоннеля. В область поднадкостничного тоннеля уложен материал в зависимости от группы животного. Материал был прошит с помощью шовного материала Prolene 6/0 к мягким тканям десны для удобной локализации участка трансплантации при выполнении гистологических исследований.

Из наркоза животных выводили с помощью внутримышечной инъекции препарата «Антиседан» 0,2 мг. После операции животным было проведено внутримышечное введение препарата «Ципромаг» 3,5 мг, Кетарол 0,35 мг.

По окончании эксперимента животных выводили с помощью передозировки эфира через 7, 14, 30, 45, 60 и 90 суток.

Участок нижней челюсти с участком трансплантации и окружающими тканями фиксировали в 10% формалине.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

7 сутки после имплантации материала

1. Материал Mucograft через 7 суток после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля.

К 7 суткам после имплантации материала Mucograft в область созданного слизисто-надкостничного тоннеля определяется массив имплантата, представленный беспорядочно расположенными коллагеновыми волокнами различного диаметра. Между коллагеновыми волокнами периферических участков имплантата располагаются гистиоциты (рис. 1), реже встречаются нейтрофильные лейкоциты и немногочисленные фибробласты. Последние ориентируются вдоль поверхности имплантата. Отмечается формирование вокруг имплантата рыхлой соединительной ткани с большим количеством сосудистых элементов, часть из которых резко расширена и полнокровна.

2. Материал Mucoderm через 7 суток после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

К 7 суткам в подслизистом слое определяется имплантированный материал преимущественно гомогенной консистенции, в периферических отделах подверженный клеточной резорбции (рис. 2). Следует отметить, что структуры отдельно лежащих коллагеновых волокон, по сравнению с 1-й группой животных, встречаются реже. Среди разрозненных фрагментов имплантата выявляются преимущественно гистиоциты и значительно реже – нейтрофильные лейкоциты. В периферических участках имплантата появляются фибробласты и сосуды типа артериол, венул и капилляров. Сосуды врастают в периферические отделы имплантата из прилежащей к нему соединительной ткани. Основными клеточными элементами в этой области являются гистиоциты и в меньшей степени фибробласты. По мере удаления от краевых участков имплантированного материала содержание фибробластов увеличивается, они приобретают более ориентированное расположение, тогда как число гистиоцитов уменьшается. Общая выраженность гистиоцитарной реакции несколько слабее по сравнению с данным сроком исследования 1-й группы животных.

3. Материал Ossix Volumax через 7 суток после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

В данной группе животных в утолщенном подслизистом слое располагаются гомогенные массы имплантируемого материала, представленного очень тонкими фибриллярными структурами (рис. 3). В периферических отделах имплантата материал расслаивается, но в значительно меньшей степени, по сравнению с материалами Mucograft и Mucoderm.

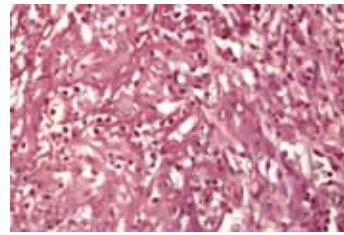


Рис. 1. Беспорядочно расположенные различного диаметра коллагеновые волокна материала Mucograft, среди которых преимущественно определяются гистиоциты. 1-я группа животных. 7 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 1. Random Mucograft collagen fibers of different diameter, among which histiocytes prevail. Animal group 1, day seven postoperatively. H&E stain, x400

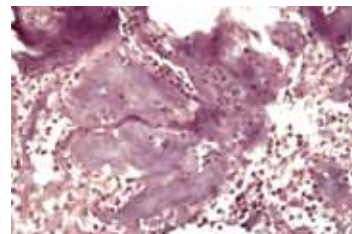


Рис. 2. Фрагменты гомогенной консистенции материала Mucoderm, среди которых определяются гистиоциты и отдельные фибробласты. 2-я группа животных. 7 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 2. Mucoderm homogenous fragments, among which histiocytes and single fibroblasts are present. Animal group 2, day seven postoperatively. H&E stain, x400



Рис. 3. Периферические участки гомогенного тонкофибриллярного материала, в расщелинах которого определяются гистиоциты и малочисленные нейтрофильные лейкоциты. 3-я группа животных. 7 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200

Fig. 3. Peripheral sites of homogenous thin-fibril material with histiocytes and few neutrophils in the gaps. Animal group 3, day seven postoperatively. H&E stain, x200

В расщелинах материала видны гистиоциты и малочисленные нейтрофильные лейкоциты. По периферии имплантата определяются гистиоциты, фибробласты, а также повышенное содержание сосудов, часть из которых ориентирована перпендикулярно к поверхности имплантированного материала. Данный материал вызывает менее выраженную гистиоцитарную реакцию и слабее подвергается резорбции в периферических отделах, по сравнению с животными 2-й и особенно 1-й группы. На границе между формирующейся вокруг имплантата тканью и прилежащей собственной пластинкой слизистой оболочки определяются элементы тонкой соединительнотканной капсулы.

14 суток после имплантации материала

1. Материал Mucograft через 14 суток после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

К данному сроку исследования имплантированный материал представлен в виде отдельно лежащих мелких фрагментов, вокруг которых преимущественно определяются гистиоциты, но также встречаются фибробласты и многоядерные гигантские клетки инородных тел. По сравнению с предыдущим сроком исследования количество гистиоцитов уменьшается. Отдельные фрагменты имплантированного материала разделены коллагенизирующей стромой. В самом имплантате большая часть коллагеновых волокон материала Mucograft разрыхлена, по сравнению с 7 сутками после операции. Часть коллагеновых волокон окружена базофильными однородными массами без четких контуров (рис. 4). Обнаруживаются фокусы новообразованной ткани типа грануляционной, характеризующейся многочисленными сосудами, ориентированными преимущественно параллельно друг другу в сторону многослойного плоского эпителия, покрывающего десну. Между сосудами в поверхностных отделах этой ткани преимущественно располагаются гистиоциты и неориентированные фибробласты. Тогда как в глубоких, наиболее зрелых, участках преобладают фибробласты и отмечается активный коллагеногенез.

2. Материал Mucoderm через 14 суток после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

Имплантированный материал Mucoderm представлен разволокненными коллагеновыми волокнами, причем эти волокна более тонкие, по сравнению с волокнами материала Mucograft (рис. 5). По сравнению с предыдущим сроком исследования уменьшается число однородных структур вокруг отдельных коллагеновых волокон. Гистиоцитарная инфильтрация выше в участках имплантата, где содержание однородных структур снижено, что, по-видимому, свидетельствует о резорбции последних гистиоци-

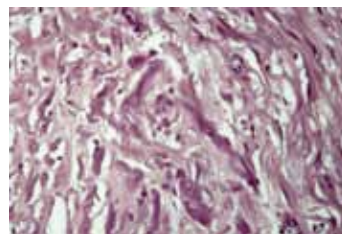


Рис. 4. Разрыхление коллагеновых волокон материала Mucograft, часть волокон окружена базофильными гомогенными массами. 1-я группа животных. 14 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 4. Mucograft collagen fibre loosening, basophilic homogenous masses surround part of the fibres. Animal group 1, day 14 postoperatively. H&E stain, x400

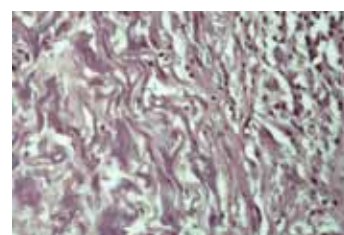


Рис. 5. Относительно тонкие коллагеновые волокна материала Mucoderm, в участках концентрации гистиоцитов содержание гомогенных структур вокруг коллагеновых волокон уменьшается. 2-я группа животных. 14 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 5. Mucoderm relatively thin collagen fibres; homogenous structures are reducing around collagen fibres in histiocyte concentration areas. Animal group 2, day 14 postoperatively, H&E stain, x400

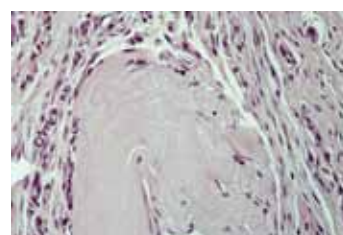


Рис. 6. Гомогенный тонкофибриллярный материал Ossix Volumax, в периферические отделы которого врастают отдельные сосуды, фибробласты и гистиоциты. Имплантат окружен преимущественно фибробластами и коллагеновыми волокнами, тогда как гистиоциты малочисленны. 3-я группа животных. 14 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 6. Homogeneous thin-fibril Ossix scaffold, in the peripheries of which vessels, fibroblasts and histiocytes grow. Fibroblasts and collagen fibres surround the graft, while histiocytes are scarce. Animal group 3, day 14 postoperatively. H&E stain, x400

тами. Следует отметить менее выраженную гистиоцитарную реакцию на имплантат, по сравнению с 1-й группой животных того же срока исследования. В периферических отделах имплантата собственные пучки коллагеновых волокон располагаются более разрозненно, чем в центральных участках. Здесь же определяются отдельные сосуды, клеточные элементы в виде гистиоцитов и фибробластов, также формируются новообразованные коллагеновые волокна. В центральных участках имплантата клеточные элементы и новообразованные коллагеновые волокна определяются реже, чем в периферических отделах имплантированного материала. По периферии имплантата формируется относительно тонкая рыхлая соединительнотканная капсула, в которой определяется довольно высокое содержание сосудов различного калибра.

3. Материал Ossix Volumax через 14 суток после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

Определяются элементы гомогенного тонкофибриллярного имплантированного материала, в периферических отделах которого отмечается вращение немногочисленных сосудов и клеточных элементов в виде гистиоцитов и фибробластов (рис. 6). Объем материала уменьшается по сравнению с предыдущим сроком исследования. Однако его клеточная резорбция протекает менее активно, по сравнению с 1-й и 2-й группами животных, что, по-видимому, объясняется слабым разволокнением краевых участков материала Ossix Volumax и незначительным вращением в него сосудов. Вокруг имплантированного материала, по сравнению со 2-й и особенно 1-й группами животных, увеличивается число активных фибробластов и новообразованных коллагеновых волокон. Также наблюдается относительно высокое содержание сосудов, отдельные микрофокусы скоплений гистиоцитов и ксантомных клеток. Гистиоцитарная реакция значительно менее выражена по сравнению со 2-й и особенно 1-й группами животных.

30 суток после имплантации материала

1. Материал Mucograft через 1 месяц после имплантации в полости рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

К 30 суткам после имплантации обнаруживаются фрагменты материала Mucograft в виде разрозненных пучков коллагеновых волокон. Часть коллагеновых волокон окружена базофильным гомогенным матриксом, который постепенно резорбируется гистиоцитами (рис. 7). В периферических отделах имплантата волокна подвергаются резорбции довольно многочисленными гистиоцитами, тогда как в центральных отделах имплантата сохраняются минимально измененные коллагеновые волокна. Здесь

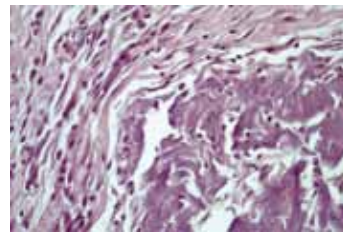


Рис. 7. Часть коллагеновых волокон окружена базофильным гомогенным матриксом. 1-я группа животных. 30 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 7. Homogeneous basophilic matrix surrounds part of the collagen fibres. Animal group 1, postoperative day 30. H&E stain, x400

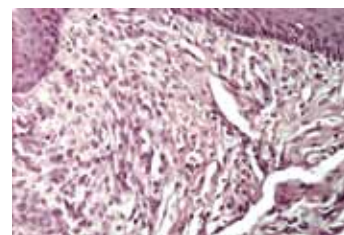


Рис. 8. Новообразованная ткань в области имплантированного материала представлена функционально активными фибробластами, расположенными между ними коллагеновыми волокнами, сосудами. Имплантированный материал полностью резорбирован. 2-я группа животных. 30 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 8. Newly formed tissue in the area of the scaffold is represented by functionally active fibroblasts, and collagen fibres and blood vessels located between them. The graft is completely resorbed. Animal group 2, postoperative day 30. H&E stain, x400

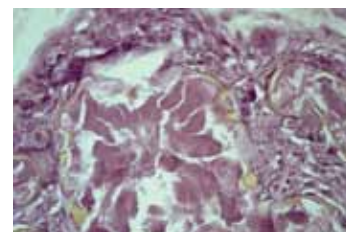


Рис. 9. Микрофрагменты материала Ossix Volumax, окруженные тонкой соединительнотканной капсулой, малочисленными гистиоцитами и фибробластами. 3-я группа животных. 30 суток после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 9. Thin connective tissue capsule, insignificant number of histiocytes and fibroblasts surround Ossix Volumax microfragments. Animal group 3, postoperative day 30. H&E stain, x400

же среди волокон располагаются группы гистиоцитов. В наружных отделах, на границе с неповрежденными тканями, формируется соединительнотканная капсула, представленная новообразованными коллагеновыми волокнами и фибробластами, ориентированными параллельно поверхности имплантата. Однако на большей части периметра имплантата эта соединительнотканная капсула определяется с трудом. В подобных участках в основном обнаруживаются конгломераты гистиоцитов и немногочисленные фибробласты.

2. Материал Mucoderm через 1 месяц после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

К 30 суткам после операции определяется утолщенный подслизистый слой, при этом непосредственно под многослойным плоским эпителием в области имплантированного материала формируется соединительная ткань, представленная преимущественно ориентированными вдоль поверхности эпителия фибробластами с веретеновидными ядрами и длинными цитоплазматическими отростками, среди которых располагаются пучки коллагеновых волокон (рис. 8). Элементы имплантированного материала Mucoderm к данному сроку исследования не выявляются. По сравнению с предыдущим сроком исследования уменьшается число гистиоцитов, сосудов и отек ткани. В некоторых участках еще можно обнаружить мелкие фокусы скопления гистиоцитов, по-видимому, участвующих в резорбции остатков имплантационного материала.

3. Материал Ossix Volumax через 1 месяц после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

В подслизистом соединительнотканном слое определяются микрофрагменты имплантированного материала, окруженные тонким слоем коллагеновых волокон. Здесь же располагаются группы гистиоцитов, реже выявляются фибробласты, а также отдельные гигантские многоядерные клетки инородных тел. Сохраняются относительно крупные сосуды в виде артериол и венул. В краевых участках имплантированного материала отмечается врастание мелких сосудов. Клеточная реакция, в частности гистиоцитарная, значительно менее выражена по сравнению с 1-й группой животных данного срока исследования. Определяется конгломерат мелкодисперсного материала, в краевых участках отмечается врастание отдельных сосудов, единичные гистиоциты и фибробласты.

45-90 сутки после имплантации материала

1. Материал Mucograft через 1,5-3 месяца после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

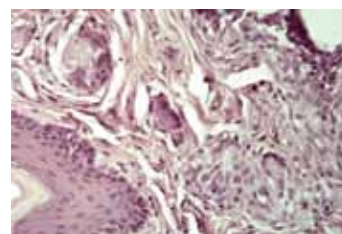


Рис. 10. Единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел среди фокуса соединительнотканной стромы, в котором преобладают фибробласты. 1-я группа животных. 3 месяца после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 10. Single multinucleated foreign body giant cells among connective tissue stroma where fibroblasts prevail. Animal group 1, three months postoperatively. H&E stain, x400

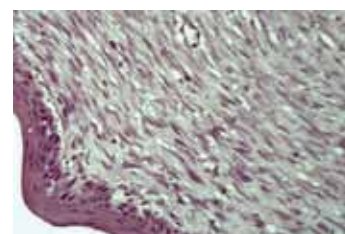


Рис. 11. Новообразованная соединительная ткань, представленная ориентированными коллагеновыми волокнами, малоактивными фибробластами, единичными гистиоцитами. 2-я группа животных. 3 месяца после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 11. Newly formed connective tissue, represented by oriented collagen fibres, low-activity fibroblasts, single histiocytes. Animal group 2, three months postoperatively. H&E stain, x400

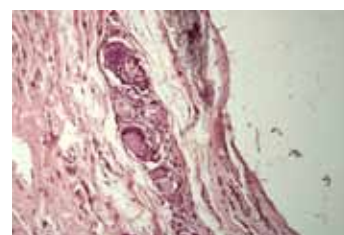


Рис. 12. Микрочастицы материала Ossix Volumax, окруженные малочисленными гистиоцитами и единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел. 3-я группа животных. 3 месяца после имплантации материала. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Fig. 12. Ossix Volumax microparticles, surrounded by insignificant number of histiocytes and single multinucleated foreign body giant cells. Animal group 3, three months postoperatively. H&E stain, x400

В подслизистом соединительнотканном слое определяется участок, представленный фокусом соединительной ткани, по краям которого обнаруживаются гранулемы, сформированные вокруг пустот из-под шовного материала. В пространстве, ограниченном гранулемами, располагаются элементы соединительной ткани в виде зрелых коллагеновых волокон, фибробластов и малочисленных гистиоцитов. Зрелость коллагеновых волокон по мере увеличения сроков исследования прогрессирует, при этом более четко определяются границы новообразованных и созревающих волокон. Фрагменты имплантированного материала визуально не определяются. Встречаются отдельные гигантские многоядерные клетки инородных тел (рис. 10), по-видимому, участвующие в резорбции остатков микрочастиц имплантированного материала Mucograft.

2. Материал Mucoderm через 1,5-3 месяца после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

К данному сроку исследования под многослойным плоским эпителием располагается относительно тонкий подслизистый слой десны, в котором коллагеновые волокна расположены относительно плотно, среди них определяются малоактивные фибробласты с веретеновидными ядрами и длинными отростками (рис. 11). Преобладающими элементами в новообразованной ткани становятся постепенно созревающие и подверженные ремоделированию коллагеновые волокна. Содержание сосудов, клеточных элементов – фибробластов и особенно гистиоцитов уменьшается.

3. Материал Ossix Volumax через 3 месяца после имплантации в полость рта крысы в области слизисто-надкостничного тоннеля

На третий месяц после операции в области имплантации определяются лишь мизерные частицы имплантированного материала Ossix Volumax, окруженные малочисленными гистиоцитами и единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел (рис. 12), участвующими в резорбции имплантата. Какой-либо клеточной реакции, по сравнению со 2-й и особенно 1-й группами животных не определяется.

Таким образом, патоморфологическое исследование показало, что к 7 суткам после имплантации сравниваемых материалов наиболее выраженная воспалительная реакция в виде гистиоцитарной инфильтрации ткани наблюдалась в 1-й группе животных, тогда как наименее слабая – в 3-й группе. Материал Ossix Volumax был значительно менее подвержен разволокнению и в него меньше вросло сосудистых и клеточных элементов.

К 14 суткам исследования процессы резорбции имплантированного материала прогрессировали,

при этом наиболее выраженная гистиоцитарная реакция на имплантированный материал наблюдалась в 1-й группе животных, тогда как в 3-й группе она была значительно слабее, по сравнению со 2-й и особенно 1-й группами. Процессы резорбции имплантированного материала наименее выражены в 3-й группе животных.

К 30 суткам после операции в 1-й группе животных еще сохранялись фрагменты имплантированного материала, активно резорбируемого гистиоцитами. В то же время во 2-й группе животных материал Mucoderm был полностью резорбирован и в области его имплантации формировалась новообразованная соединительная ткань с функционально активными фибробластами, новообразованными коллагеновыми волокнами и малочисленными гистиоцитами. В 3-й группе животных сохранялись фрагменты имплантированного материала Ossix Volumax, подверженного резорбции малочисленными гистиоцитами.

К 90 суткам после операции материал Mucograft в 1-й группе животных был полностью резорбирован, и в области его имплантации формировался фокус соединительной ткани с функционально активными фибробластами, коллагеновыми волокнами и отдельными многоядерными клетками инородных тел. Во 2-й группе животных в области имплантации материала формировалась относительно зрелая соединительная ткань с малоактивными фибробластами и отсутствием многоядерных клеток инородных тел. В 3-й группе животных в области имплантированного материала выявлялись отдельные микрочастицы материала Ossix Volumax, подверженные резорбции малочисленными гистиоцитами и многоядерными клетками инородных тел.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

– Среди сравниваемых коллагеновых материалов наиболее выраженная воспалительная реакция на имплантат наблюдалась в 1-й группе животных;

– наиболее длительный период резорбции имплантата и наименее выраженная воспалительная реакция отмечена в 3-й группе животных при использовании сшитого коллагенового материала Ossix Volumax.

При сравнении несшитых коллагеновых материалов выявлено:

– материал Mucograft вызывал более выраженную воспалительную реакцию и длительнее резорбировался по сравнению с материалом Mucoderm;

– формирующаяся в области имплантации новообразованная соединительная ткань в более ранние сроки созревала и подвергалась последующему ремоделированию при использовании материала Mucoderm.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sanz M, Lorenzo R, Aranda JJ, Martin C, Orsini M. Clinical evaluation of a new collagen matrix (Mucograft prototype) to enhance the width of keratinized tissue in patients with fixed prosthetic restorations: A randomized prospective clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 2009;36(10):868–876.
doi: 10.1111/j.1600-051x.2009.01460.x
2. McGuire MK, Scheyer ET, Nunn M. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue: comparison of clinical parameters at 10 years. *Journal of Periodontology*. 2012;83(11):1353–62.
doi: 10.1902/jop.2012.110373
3. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *Journal of Periodontology*. 2001;72(2):215–229.
doi: 10.1902/jop.2001.72.2.215
4. Tal H, Kozlovsky A, Artzi Z, Nemcovsky CE, Moses O. Long-term bio-degradation of cross-linked and non-cross-linked collagen barriers in human guided bone regeneration. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(3):295–302.
doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01424.x
5. Pitaru S, Tal H, Seldinger M, Grosskopf A, Noff M. Partial regeneration of collagen tissues using collagen barriers: Initial observation in canine. *Journal of Periodontology*. 1988;59(6):380–386.
doi: 10.1902/jop.1988.59.6.380
6. Montjovent MO, Mathieu L, Schmoekel H, Mark S, Bourban PE, Zambelli PY, et al. Repair of critical size defects in the rat cranium using ceramic-reinforced PLA scaffolds obtained by supercritical gas foaming. *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2007;83(1):41–51.
doi: 10.1002/jbm.a.31208
7. Kuo SM, Chang SJ, Cheng-Chie Niu G. Guided tissue regeneration with use of β -TCP/chitosan composite membrane. *Journal of Applied Polymer Science*. 2009;112(5):3127–3134.
doi: 10.1002/app.29664
8. Hardwick R, Hayes BK, Flynn C. Devices for dento-alveolar regeneration: an up-to-date literature review. *Journal of Periodontology*. 1995;66(6):495–505.
doi: 10.1902/jop.1995.66.6.495
9. Rothamel D, Schwarz F, Stoldt V, Herten M, Kotthaus C, Becker J. In vitro testing of thrombocyte adhesion to different collagenous hemostatic agents. *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Implantologie in Dortmund*. 2006;10(3):148–154.
doi: 10.1007/s10006-006-0681-5
10. Pitaru S, Tal H, Seldinger M, Noff M. Collagen membranes prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs. *Journal of Dental Research*. 1989;24(4):247–253.
doi: 10.1111/j.1600-0765.1989.tb01789.x
11. Moses O, Vitrial D, Aboodi G, Sculean A, Tal H, Kozlovsky A, et al. Biodegradation of three different collagen membranes in the rat calvarium: a comparative study. *Journal of Periodontology*. 2008;79(5):905–911.
doi: 10.1902/jop.2008.070361
12. Rothamel D, Schwarz F, Sculean A, Monika H, Scherbaum W, Becker J. Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clinical Oral Implants Research*. 2004;15:443–449.
doi: 10.1111/j.1600-0501.2004.01039.x
13. Kodama T, Minabe M, Hori T, Watanabe Y. The effect of various concentrations of collagen barrier on periodontal wound healing. *Journal of Periodontology*. 1989;60(4):205–210.
doi: 10.1902/jop.1989.60.4.205
14. Minabe M, Kodama T, Kogou T, Tamura T, Hori T, Watanabe Y, et al. Different cross-linked types of collagen implanted in rat palatal gingiva. *Journal of Periodontology*. 1989;60(1):35–43.
doi: 10.1902/jop.1989.60.1.35
15. Quteish D, Dolby AE. The use of irradiated-crosslinked human collagen membrane in guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*. 1992;19(7):476–484.
doi: 10.1111/j.1600-051x.1992.tb01160.x
16. Khor E. Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprotheses. *Biomaterials*. 1997;18(2):95–105.
doi: 10.1016/s0142-9612(96)00106-8
17. Paul BF, Mellonig JT, Towle HJ, Gray JL. Use of a collagen barrier to enhance healing in human periodontal furcation defects. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 1992;12(2):123–131. PMID: 1521994
18. Blumenthal NM. The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. *Journal of Periodontology*. 1988;59(12):830–836.
doi: 10.1902/jop.1988.59.12.830
19. Rothamel D, Schwarz F, Sager M, Herten M, Sculean A, Becker J. Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat. *Clinical Oral Implants Research*. 2005;16(3):369–378.
doi: 10.1111/j.1600-0501.2005.01108.x
20. Al-Maawi S, Orłowska A, Sader R, James Kirkpatrick C, Ghanaati S. In vivo cellular reactions to different biomaterials. Physiological and pathological aspects and their consequences. *Seminars in Immunology*. 2017;29:49–61.
doi: 10.1016/j.smim.2017.06.001
21. Miron RJ, Zohdi H, Fujioka-Kobayashi M, Bosshardt DD. Giant cells around bone biomaterials: Osteoclasts or multi-nucleated giant cells? *Acta Biomaterialia*. 2016;46:15–28.
doi: 10.1016/j.actbio.2016.09.029
22. Sela MN, 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. *Clinical Oral*

Implants Research. 2009;20(5):496-502.

doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01678.x

23. Ghanaati S, Schlee M, Webber MJ. Evaluation of the tissue reaction to a new bilayered collagen matrix in vivo and its translation to the clinic. *Biomedical Materials*. 2011;6(1):015010.

doi: 10.1088/1748-6041/6/1/015010

24. Sanz-Martín I, Rojo E, Maldonado E, Stroppa G, Nart J, Sanz M. Structural and histological differences between connective tissue grafts harvested from the

lateral palatal mucosa or from the tuberosity area. *Clinical Oral Investigations*. 2019;23(2):957-964.

doi: 10.1007/s00784-018-2516-9

25. Gargallo-Albiol J, Barootchi S, Tavelli L, Wang HL. Efficacy of Xenogeneic Collagen Matrix to Augment Peri-Implant Soft Tissue Thickness Compared to Autogenous Connective Tissue Graft: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2019;34(5):1059-1069.

doi: 10.11607/jomi.7497

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за связь с редакцией:

Мележечкина Ирина Алексеевна, аспирант кафедры пародонтологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

Для переписки: iraknopka1@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0703-521X>

Атрушкевич Виктория Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры пародонтологии Московского государственного ме-

дико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

Для переписки: atrushkevichv@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4141-1370>

Берченко Геннадий Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий патологоанатомическим отделением НМИЦ травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова, Москва, Российская Федерация

Для переписки: berchenko@cito-bone.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7920-0552>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Corresponding author:

Irina A. Melezhechkina, DMD, PhD Student, Department of Periodontology, A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

For correspondence: iraknopka1@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0703-521X>

Victoria G. Atrushkevich, DMD, PhD, DSc, Professor, Department of Periodontology, A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation.

For correspondence: atrushkevichv@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4141-1370>

Gennadiy N. Berchenko, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathology, National Medi-

cal Research Center of Traumatology and Orthopedics named after N. N. Priorov, Moscow, Russian Federation

For correspondence: berchenko@cito-bone.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7920-0552>

Конфликт интересов:

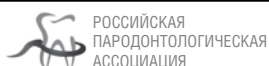
Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов/ Conflict of interests:

The authors declare no conflict of interests

Поступила / Article received 18.10.2021

Поступила после рецензирования / Revised 19.12.2021

Принята к публикации / Accepted 21.12.2021



ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСКОЙ ГРУППЫ РПА

Журнал «Стоматология детского возраста и профилактика»

Стоимость подписки в печатном виде на 2022 год по России – 2700 рублей

Подписной индекс в каталоге «Урал-Пресс» – ВН018524

Электронная версия в открытом доступе

www.detstom.ru

PubMed NLM ID:101516363

Импакт-фактор: 1.3