

**Посессор Андрей Дмитриевич**

**КЛИНИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕСНЫ  
В ОБЛАСТИ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ  
ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИКСОВ И  
СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ**

**3.1.7. — Стоматология**

**1.5.22. — Клеточная биология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание учёной степени**

**кандидата медицинских наук**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научные руководители:** доктор медицинских наук, доцент

**Бадалян Вардитер Агабековна**

доктор медицинских наук, доцент

**Васильев Андрей Вячеславович**

**Официальные оппоненты:**

**Степанов Александр Геннадьевич** — доктор медицинских наук, доцент, профессор института цифровой стоматологии медицинского института Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы».

**Затолокина Мария Алексеевна** — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России».

Защита состоится «27» февраля 2025 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета (21.1.079.02) Федерального государственного бюджетного учреждения национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 119021, Москва, ул. Тимура Фрунзе, д. 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте [www.cniis.ru](http://www.cniis.ru).

Автореферат разослан «24» января 2025 года.

Ученый секретарь

Диссертационного совета,

кандидат медицинских наук

Гусева Ирина Евгеньевна

## **Актуальность исследования**

Толщина мягких тканей является основным из факторов выживания дентальных имплантатов в долгосрочном периоде и напрямую влияет на стабильность кости и риск развития периимплантита, в то время как цвет и объём коренным образом влияют на эстетику улыбки [Степанов А.Г. и др., 2022; Ashurko I. et al., 2021; Tavelli L. et al., 2023].

Для увеличения объёма мягких тканей используют различные аутогенные и ксеногенные трансплантаты. Наиболее эффективными и надёжными считаются аутогенные соединительнотканые трансплантаты, полученные из области нёба или бугра верхней челюсти [Zucchelli G. et al., 2020]. Однако их использование ограничено необходимостью создания второго операционного поля, объёмом донорской зоны, риском кровотечения в результате повреждения близлежащих артерий, дополнительной болью, увеличением продолжительности операции и реабилитации пациента [Sanz-Martín I., 2019].

В последнее время в качестве альтернативы, лишённой этих недостатков, используют так называемые коллагеновые матриксы, среди которых наиболее популярным является Fibro-Gide (Geistlich, Швейцария) [Cosyn J. et al., 2021; Ibrahim A. et al., 2024]. Наиболее распространённым отечественным аналогом является FibroMatrix (ООО «Кардиоплант», Россия) [Есаян А.В., 2022].

Тем не менее, врачи по-прежнему предпочитают аутогенные соединительнотканые трансплантаты и считают их более эффективными, чем коллагеновые матриксы, что подтверждают только клинические исследования и мнения единичных специалистов по некоторым отдельным аспектам [De Angelis P. et al., 2023; Hadzik J. et al., 2023]. Комплексного исследования, направленного на оценку взаимосвязи клинической и морфологической характеристики мягких тканей в области дентальных имплантатов после применения коллагеновых матриксов и соединительнотканых трансплантатов, ещё не было представлено.

## **Степень разработанности темы исследования**

В настоящее время существует ограниченное количество опубликованных комплексных клинико-морфологических исследований, посвящённых оценке эффективности применения различных коллагеновых матриксов и соединительнотканых трансплантатов, полученных из области нёба и бугра верхней челюсти. Большинство исследований посвящено сравнению толщины слизистой оболочки рта после применения коллагеновых матриксов с соединительноткаными трансплантатами [Thoma D.S. et al., 2023a]. При этом морфологическая структура полученного регенерата не учитывается. Существуют только единичные исследования [Ашурко, И.П. и др., 2022; Есаян А.В., 2022; Horváth A. et al., 2024]. Однако в этих исследованиях было проведено сравнение только одного вида

коллагенового матрикса с одним видом соединительнотканного трансплантата, что не даёт увидеть полную картину использования коллагеновых матриксов и соединительнотканых трансплантатов. Стоит отметить, что авторы использовали только один метод измерения толщины мягких тканей — сопоставление цифровых оттисков челюстей. Также несмотря на наличие в перечисленных исследованиях гистологической характеристики регенератов мягких тканей, не было сделано выводов о взаимосвязи клинической и гистологической картин после применения разных материалов для увеличения толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов.

Таким образом, в настоящее время отсутствует комплексное клинимоρφологическое исследование, направленное на изучение увеличения объёма мягких тканей в зоне дентальных имплантатов путём применения различных коллагеновых матриксов и соединительнотканых трансплантатов, взятых из разных донорских зон.

### Цель

Выявить взаимосвязь клинической и гистологической характеристики слизистой оболочки после применения свободных соединительнотканых трансплантатов и коллагеновых матриксов для обоснования планирования пластики мягких тканей в области дентальной имплантации.

### Задачи

1. По клиническим данным выявить различия в толщине и объёме слизистой оболочки в области применения свободных соединительнотканых трансплантатов и коллагеновых матриксов при дентальной имплантации.

2. Оценить разницу в цвете слизистой оболочки в области применения свободных соединительнотканых трансплантатов и коллагеновых матриксов с соседними участками прикреплённой десны через 3 месяца после операции.

3. На основе анализа боли, отёка, гиперемии и заживления проанализировать послеоперационное состояние пациентов в зависимости от используемого материала для увеличения объёма мягких тканей.

4. На клеточных культурах в исследовании *in vitro* сравнить цитосовместимость, структурные и упругие свойства коллагеновых матриксов.

5. С помощью гистологического исследования и морфометрии выявить структурные различия строения донорских зон, используемых для получения свободных соединительнотканых трансплантатов.

6. С помощью гистологического исследования и морфометрии выявить структурные различия слизистой оболочки в области применения коллагеновых матриксов и соединительнотканых трансплантатов.

7. Проанализировать взаимосвязь клинических параметров слизистой оболочки и гистологической структуры регенератов после применения коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов.

### **Научная новизна исследования**

Впервые проведено комплексное сравнение толщины и объёма мягких тканей после применения свободных соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра с их заменителями в виде коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix при дентальной имплантации.

Впервые выявлена разница в цветовом тоне слизистой оболочки в области применения свободных соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра и коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix по сравнению с соседними участками прикреплённой десны.

Впервые выявлены различия гистологического строения донорских зон, используемых для получения соединительнотканых трансплантатов, а также охарактеризована цитосовместимость в зависимости от структурных и механических свойств для коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix.

Впервые с помощью гистологического исследования и морфометрии выявлены структурные различия слизистой оболочки в области применения коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix и соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра.

Впервые найдена взаимосвязь клинических параметров слизистой оболочки и гистологической структуры регенератов после применения коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Теоретические данные, полученные в результате выполненного исследования, вносят существенный вклад в концепцию регенерации мягких тканей рта и обосновывают различия в наблюдаемых клинических признаках при применении свободных соединительнотканых трансплантатов и искусственных заменителей десны. Эти сведения могут быть полезны при создании и изучении биологически активных материалов для наращивания толщины мягких тканей слизистой оболочки рта. Они также могут найти применение в разработке новых методов лечения и улучшения существующих подходов в стоматологии. Практическая значимость работы заключается в том, что полученные данные позволят стоматологу оценить потенциал прироста мягких тканей и эстетический результат на этапе планирования увеличения объёма мягких тканей при дентальной имплантации.

## Методология и методы исследования

Работа состояла из трёх логических частей. В первой части работы были рассмотрены результаты клинических исследований, направленных на увеличение толщины и объёма мягких тканей в области дентальных имплантатов с применением различных коллагеновых матриксов и свободных соединительнотканых трансплантатов, взятых из области твёрдого нёба и бугра верхней челюсти. Для оценки изменений толщины мягких тканей использовали различные методы: прокол слизистой оболочки спредером с силиконовым стоппером, сравнение цифровых 3D-моделей и конусно-лучевая компьютерная томография до, через 3 и 6 месяцев после операции. Также проводили оценку цвета мягких тканей с помощью фотографий в поляризованном свете, оценку боли, отёка и послеоперационного заживления.

Вторая часть была связана с клеточной биологией и гистологией. В полученных биоптатах оценивали клеточный состав, объём и количество сосудов, соотношение коллагеновых волокон и остаток материалов. Использовали гистологические окраски гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и по Массону, а также иммуногистохимические окраски для определения клеточного состава регенерата. Структуру биоптатов, полученных из области увеличения объёма мягких тканей, сравнивали со структурой исходных трансплантатов, полученных с нёба и бугра на этапе выполнения операции. Дополнительно оценивали цитосовместимые свойства коллагеновых материалов и их зависимость от структуры, водопоглощения и механических свойств.

На третьем и завершающем этапе полученные клинические и гистологические данные были сопоставлены для оценки их взаимосвязи.

## Положения, выносимые на защиту

1. Использование аутогенных свободных соединительнотканых трансплантатов с нёба и бугра верхней челюсти после аугментации мягких тканей в области дентальных имплантатов позволяет добиться большего прироста толщины и объёма мягких тканей, чем использование их заменителей в виде коллагеновых матриксов.

2. Использование свободных соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра не приводит к значимым отличиям в цветовом тоне слизистой оболочки, в то время как использование коллагеновых матриксов Fibro-Gide и FibroMatrix приводит к образованию мягких тканей с более жёлтым тоном.

3. Использование свободных соединительнотканых трансплантатов провоцирует бóльшую интенсивность болевых ощущений, чем использование коллагеновых матриксов, при сопоставимых показателях индекса заживления, при этом применение трансплантатов характеризуется менее выраженным коллатеральным отёком.

4. После увеличения мягких тканей в области дентальных имплантатов наибольшее удельное количество сосудов и фибробластов образуется при использовании свободных соединительнотканых трансплантатов с нёба и бугра, по сравнению с использованием коллагеновых матриксов.

5. Меньшая толщина мягких тканей и их более выраженный жёлтый оттенок после применения коллагеновых матриксов в сравнении со свободными соединительноткаными трансплантатами обусловлены меньшим количеством сосудов, формирующихся после их использования, а меньшая толщина регенерата связана с меньшим удельным количеством фибробластов.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности определена достаточным количеством групп исследования и объёмом клинического и гистологического материала и результатов. В клиническую часть исследования вошли 84 пациента, которые были случайным образом распределены на 4 группы в зависимости от применяемого материала для увеличения толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов. В гистологической части исследования были изучены биоптаты мягких тканей, полученные от 76 пациентов. Проведено гистоморфометрическое исследование 304 гистологических препаратов. Исследование на клеточных культурах выполнено с использованием различных взаимодополняющих методик на 36 повторах. Полученные данные проведённых исследований подвергали надлежащему статистическому анализу.

Результаты исследования доложены на XIV научно-практической конференции молодых учёных «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии», посвященной 140-летию со дня рождения профессора А.И. Евдокимова (Москва, 2023 г, присвоено I место в конкурсе молодых учёных); на итоговой научной конференции молодых ученых МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва, 2023 г, присвоено III место в конкурсе молодых учёных); на международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (Рязань, 2021 г); на XIV Национальном фестивале имплантологии в рамках XLIX Всероссийской научно-практической конференции СТАР «Стоматология XXI века» (Москва, 2023 г); на VI национальном конгрессе по регенеративной медицине (Санкт-Петербург, 2024 г); на XV научно-практической конференции молодых учёных «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии», посвященной памяти Заслуженного деятеля науки РФ, чл.-корр. РАМН, профессора Безрукова В.М. (Москва, 2024 г).

Апробация диссертации проведена 07.03.2024 на совместном заседании сотрудников отделения клинической и экспериментальной имплантологии, отдела разработки высокотехнологичных методов реконструктивной челюстно-лицевой

хирургии, отделения функциональной диагностики, отделения лучевых методов диагностики, современных технологий комплексного стоматологического лечения, отделения хирургической стоматологии, отделения терапевтической и профилактической стоматологии, отделения госпитальной ортодонтии, отделения клинической и госпитальной ортодонтии, отделения пародонтологии, отдела организации стоматологической службы, лицензирования и аккредитации, управления научных и лабораторных исследований ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационной работы внедрены в работу отделения клинической и экспериментальной имплантологии и отделения реконструктивной и пластической хирургии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздрава России. Материалы используются при обучении ординаторов и аспирантов.

### **Личный вклад автора**

Автор был непосредственно вовлечён во все стадии исследования: изучил научные материалы по теме, которые были опубликованы в последние годы, проводил обследования и операции, а также наблюдал за пациентами после лечения, используя клинические, рентгенологические и морфологические методы. Автор также проанализировал результаты исследования и выполнил статистический анализ.

### **Публикации**

По теме диссертации было опубликовано 9 научных работ, включая 5 статей, индексируемых в международных базах (Scopus) и 4 публикации в сборниках материалов Всероссийских конференций.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация представлена на 146 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, выводов, заключения, практических рекомендаций и списка литературы, включающего в себя 146 источников, из которых 30 русскоязычных и 116 англоязычных. Работа содержит 61 рисунок и 14 таблиц.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

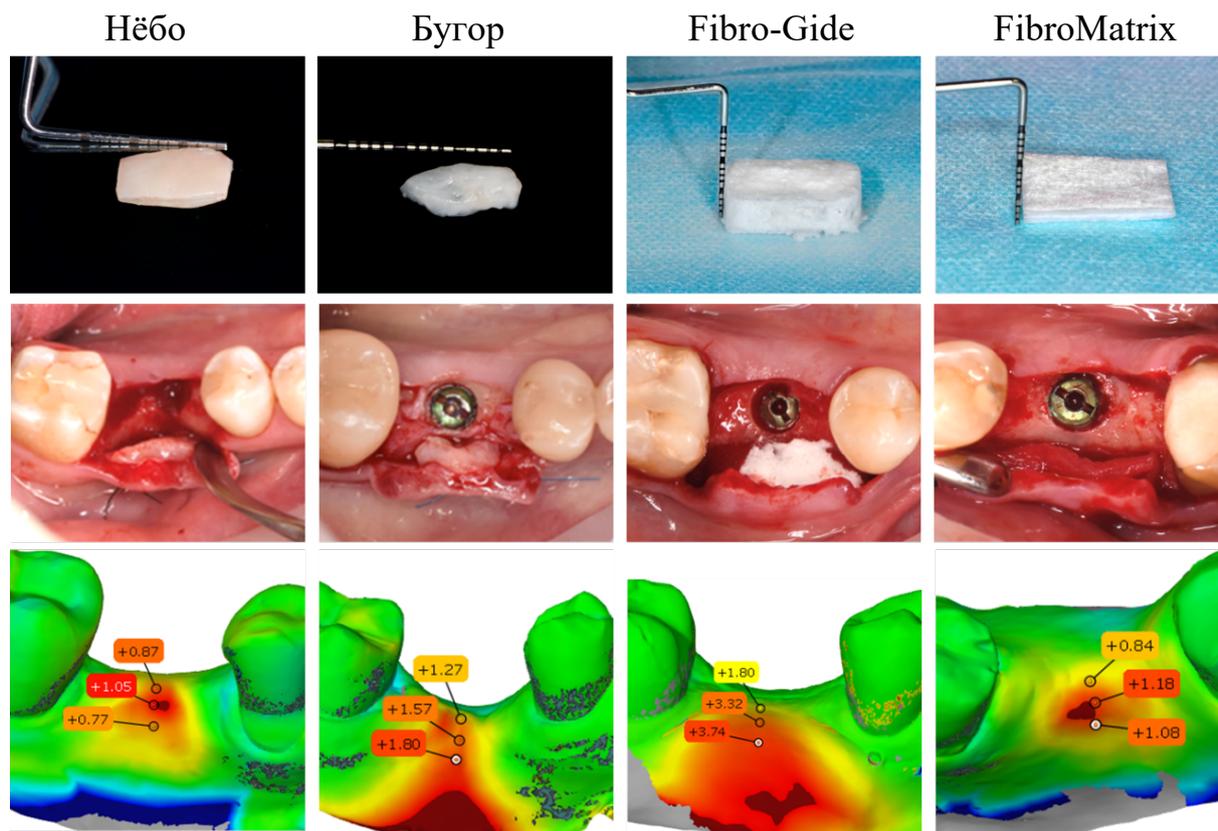
Работа состояла из трёх частей: 1 — клиническая часть, посвященная оценке толщины, объёма, цвета десны и заживления, 2 — гистологическая часть, посвященная оценке коллагеновых матриксов и свободных соединительнотканых трансплантатов (ССТ) до применения и регенератов десны после их применения, 3 — заключительная часть, посвящённая сопоставлению клинических и гистологических параметров (Таблица 1).

**Таблица 1** — Группы и этапы исследования

Группы исследования (N = 94)*							
Свободные соединительнотканые трансплантаты (ССТ)			Коллагеновые матриксы				
С нёба (n = 31)*		С бугра (n = 21)*		Fibro-Gide (n = 21)*	FibroMatrix (n = 21)*		
Методология исследования							
Клиническая часть				Гистологическая и клеточная часть			
Оценка параметров мягких тканей в зоне операции			Оценка послеоперационного периода	Исследование матриксов <i>in vitro</i>		Гистология и морфометрия	
До	Через 3 мес.	Через 6 мес.	В течение 7 дней	1, 4, 8-е сутки		До	Через 3 мес.
<p>Толщина мягких тканей: 1. Прокол мягких тканей спредером с линейкой (n = 252)** 2. Сопоставление КЛКТ и моделей (n = 168)** 3. Сопоставление цифровых моделей (n = 168)**</p> <p>Объём мягких тканей — сопоставление цифровых моделей (n = 84)**</p> <p>Ширина прикрепленных тканей — прикладывание зонда (n = 168)**</p> <p>Оценка цвета мягких тканей по фотографиям в поляризованном свете (n = 84)**</p>			<p>1. Боль — шкала ВАШ 2. Гиперемия — бальная система оценки 3. Отёк — бальная система оценки 4. Индекс заживления ЕНІ (n = 84)**</p>	<p>Острая цитотоксичность — МТТ-тест (n = 36)***</p> <p>Адгезия и миграция клеток — флуоресцентная микроскопия с окраской РКН26 (n = 36)***</p> <p>Оценка структуры, водопоглощения и механических свойств</p>		<p>Дифф. окраска и морфометрия (n=304)***</p> <p>Материалы: 1. ССТ из области нёба и бугра 2. Регенераты мягких тканей после применения матриксов и ССТ</p> <p>Окраски: Г-Э, по Ван Гизону, по Массону, пиркосириус красный.</p> <p>Показатели: относительная площадь коллагена, сосудов, оставшегося материала, количество клеток/мм<sup>2</sup>.</p> <p>Иммуногистохимия: CD45; CD68; Vimentin; Ki67.</p>	
<p>* — n = общее количество пациентов из клинической и гистологической части исследования</p> <p>** — n = объём выборки с учётом повторных измерений для разных сроков</p> <p>*** — n = объём выборки с учётом повторных серийных измерений, полученных для нивелирования погрешностей методов</p>							

## Клиническая часть

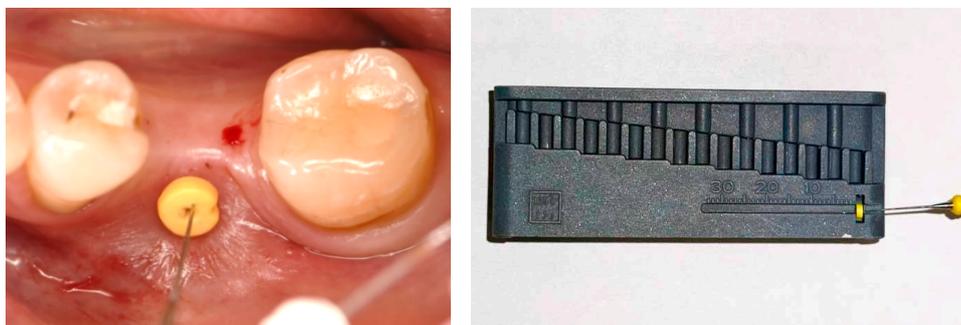
Для достижения поставленной цели проведено обследование и хирургическое вмешательство у 84 пациентов в возрасте от 27 до 71 года, из них 21 пациенту для увеличения толщины мягких тканей в области дентальных имплантатов использовали коллагеновый матрикс Fibro-Gide (Geistlich, Швейцария), у 21 пациента использовали коллагеновый матрикс FibroMatrix (ООО «Кардиоплант», Россия). В контрольные группы были включены также по 21-му пациенту, в лечении которых были использованы ССТ из области нёба и бугра верхней челюсти (Рисунок 1).



**Рисунок 1** — Материалы, используемые в исследовании

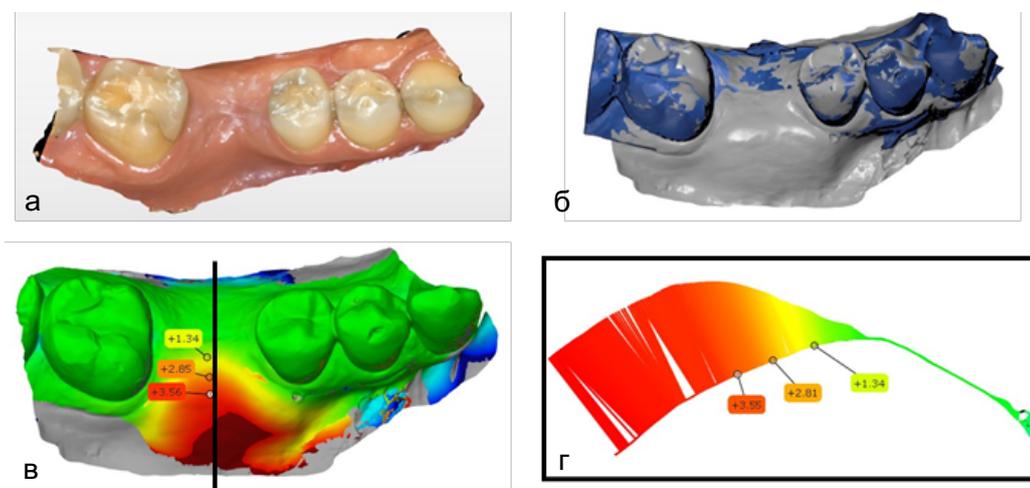
### *Методы оценки толщины десны*

**Прокол мягких тканей.** Толщину мягких тканей измеряли с помощью прокола слизистой пальцевым спредером размера 015 с силиконовым ограничителем и эндодонтической линейкой под аппликационной анестезией в области планируемой операции. Первый прокол проводили по центру гребня в середине слизистой альвеолярного отростка, далее отступали на 1 и 2 мм ниже и делали ещё 2 прокола. Толщину мягких тканей считали, как среднее от трех точек. Исследование проводили до операции, через 3 и 6 мес. после увеличения толщины мягких тканей, после чего результаты сравнивали и заносили в таблицу (Рисунок 2).



**Рисунок 2** — Определение толщины мягких тканей с помощью спредера со стопером и линейки

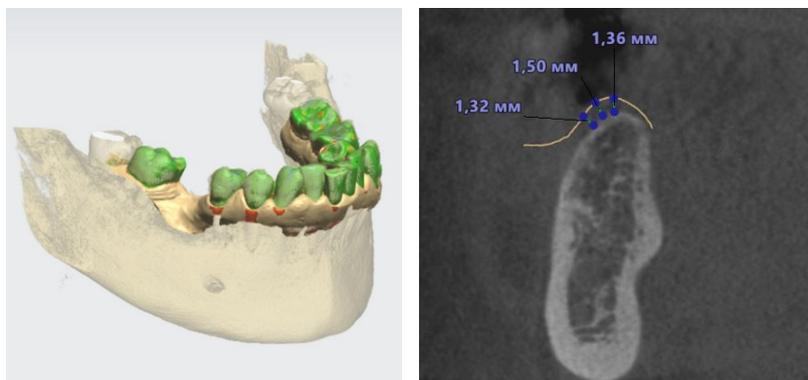
**Внутриротовое сканирование.** До операции, а также спустя 3 и 6 мес. после неё выполняли снятие цифровых оттисков для последующего анализа изменений толщины мягких тканей. Цифровой оттиск челюсти получали в формате STL с помощью оптического сканера CEREC Omnicam (Dentsply Sirona, США). Затем сравнивали полученные на этапах наблюдения модели с цифровой моделью, созданной до операции, в программном обеспечении GOM Inspect (GOM GmbH, Брауншвейг, Германия). Для сравнения цифровых моделей их накладывали друг на друга и измеряли разницу между контурами двух моделей в трёх равноудалённых точках (с интервалом 1 мм) от вершины гребня в вестибулярном направлении по центру альвеолярного гребня (Рисунок 3).



**Рисунок 3** — Определение изменения толщины мягких тканей с помощью внутриротового сканирования. а — внутриротовое сканирование участка адентии; б — сопоставление цифровых моделей; в, г — оценка прироста толщины мягких тканей

**Сопоставление КЛКТ и цифрового оттиска.** Перед оперативным вмешательством пациентам проводили КЛКТ для планирования дентальной имплантации. Исследование проводили на ортопантомографе Кранекс Д2 (фирма «Соредекс», Финляндия) с полем сканирования 14x8,5 с лучевой нагрузкой до 30 мкЗв. В программе Implant Studio (3Shape, Дания) сравнивали изображения в формате DICOM, полученные при компьютерной томографии, и цифровые модели в формате STL, созданные после цифрового сканирования. Контур цифрового оттиска, наложенного на томографию, совпадал с контуром мягких тканей рта. После

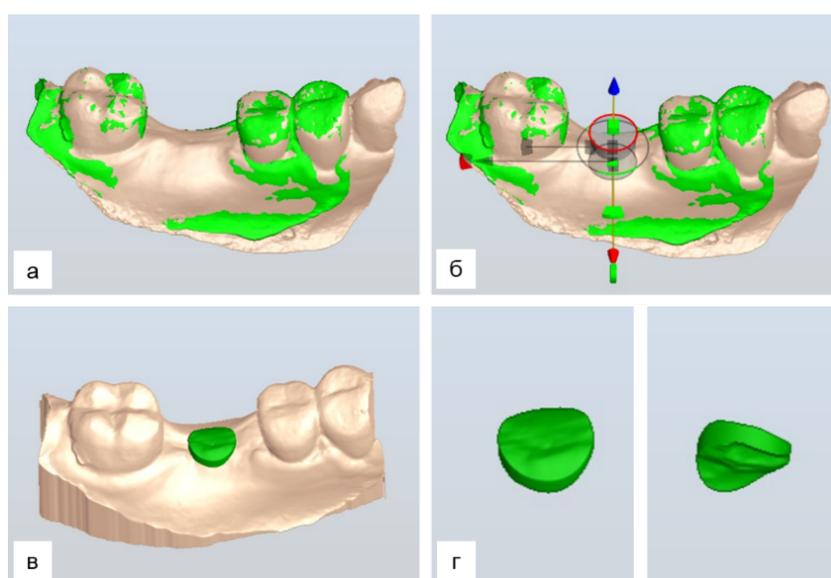
сопоставления измеряли толщину мягких тканей в трёх равноудалённых точках (с интервалом 1 мм) от вершины гребня в вестибулярную сторону. Через 6 мес. после операции для контроля интеграции имплантата повторно проводили сегментарную компьютерную томографию в зоне операции. На полученной томограмме также выполняли замеры описанным выше методом (Рисунок 4).



**Рисунок 4** — Сопоставление цифрового оттиска и КЛКТ

### *Оценка объема мягких тканей*

Для определения объема прироста мягких тканей цифровые модели сопоставляли друг с другом в программе PlastyCAD (3DIEMME Srl, Italia) с помощью трёхточечного выравнивания. Далее на модели вырезали цилиндр диаметром 5 мм над зоной установленного имплантата. Такой диаметр был выбран для стандартизации зоны измерения объема исходя из наибольшего диаметра устанавливаемого имплантата. В результате получали объемную фигуру равную объему прироста мягких тканей над областью имплантации. После чего в программе был измерен объем полученной фигуры в мм<sup>3</sup> (Рисунок 5).



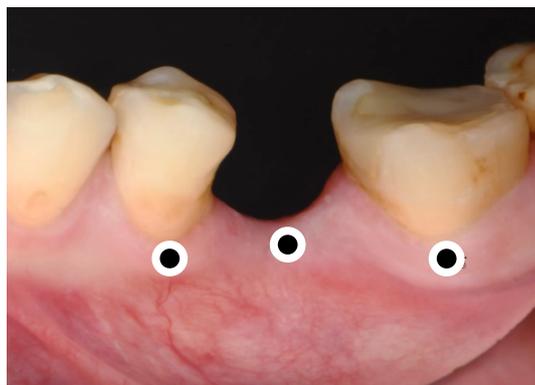
**Рисунок 5** — Сопоставление цифровых моделей и выделение объемной фигуры прироста мягких тканей диаметром 5 мм. а — сопоставление моделей; б — создание цилиндра диаметром 5 мм; в — выделение зоны для измерения; г — выделенная фигура для вычисления объема прироста мягких тканей

### ***Оценка ширины прикреплённой десны***

Для определения ширины прикреплённой десны применяли градуированный пародонтальный зонд. Его прижимали боковой поверхностью к десне и вели по направлению к вершине альвеолярной части нижней челюсти. Движение продолжали до тех пор, пока не появлялся характерный валик на границе слизисто-десневого соединения. Место остановки движения валика отмечали как начало слизисто-десневого соединения. Расстояние между этим соединением с вестибулярной и оральной сторон и было шириной прикреплённой десны. Через полгода после операции измерение ширины прикреплённых тканей повторяли.

### ***Определение цвета мягких тканей***

Через 3 мес. после операции проводили определение цвета мягких тканей и сравнение с цветом десны рядом стоящих зубов с помощью фотографий в поляризованном свете (Рисунок 6). На вспышку и объектив фотоаппарата были установлены поляризационные фильтры с целью отсечения бликов с изображения и получения точного цвета мягких тканей. На полученных изображениях в программе Photoshop v21 (США) с помощью инструмента «Пипетка» определяли цвет мягких тканей в области установленного имплантата и рядом стоящих зубов, отступя 1 мм от края коронки. Цвет определяли в цветовой модели HSB (Hue, Saturation, Brightness). Тон, насыщенность и яркость — три координаты цветовой модели. Тон — цвет, который определяется поворотом по цветовому кругу на определённый градус от 0° до 360°, где точка отсчета 0° находится в середине красного спектра. Параметры насыщенности и яркости были исключены из исследования, так как на них в большей мере влияют мощность вспышки и угол падения света. Для оценки цвета был выбран цветовой тон, параметры которого сопоставлялись между группами.



**Рисунок 6** — Сравнение цвета мягких тканей на фотографиях (использован поляризованный свет и светофильтр для отсечения бликов)

### ***Оценка послеоперационного периода***

В течение 7 дней после операции проводили оценку заживления с помощью визуального осмотра и анкетирования по следующим параметрам: болевая чувствительность, отёк, гиперемия слизистой и индекс заживления.

## **Гистологическая и клеточная часть**

### ***Исследование in vitro***

Проведена оценка цитотоксичности коллагеновых материалов с разной плотностью упаковки, конфигурацией поверхности и пористостью. Определены адгезия и миграция клеток внутрь материалов. Для сравнения использовались барьерная мембрана Bio-Gide (Швейцария) с низкой пористостью и губка Spongostan (Великобритания) с высокой пористостью и смачиваемостью. Для проверки цитосовместимости коллагеновых материалов использовали клеточную культуру человеческих мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, выделенных из пульпы выпавшего молочного зуба человека по ранее описанной технологии [Bukharova T.V. et al., 2018]. Далее применяли МТТ-тест. Он позволял определить количество живых клеток в образце. Для исследования адгезии и миграции клеток использовали клеточную культуру SHED, окрашенную витальным флуоресцентным красителем PKH26. Отдельным этапом с помощью сканирующей электронной микроскопии микроскопом Phenom ProX (Эйндховен, Нидерланды) и испытательной машины Zwick Z010 («ZwickRoell», Германия) была выполнена оценка структуры, водопоглощения и механических свойств коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix.

### ***Этапы гистологического исследования***

Гистологическое исследование состояло из трёх этапов. На первом этапе в процессе клинической работы получали биоптаты, на втором — применяли методики гистологической и иммуногистохимической окраски для дифференцировки остатков материала и структурных единиц соединительной ткани, на третьем — проводили морфометрию.

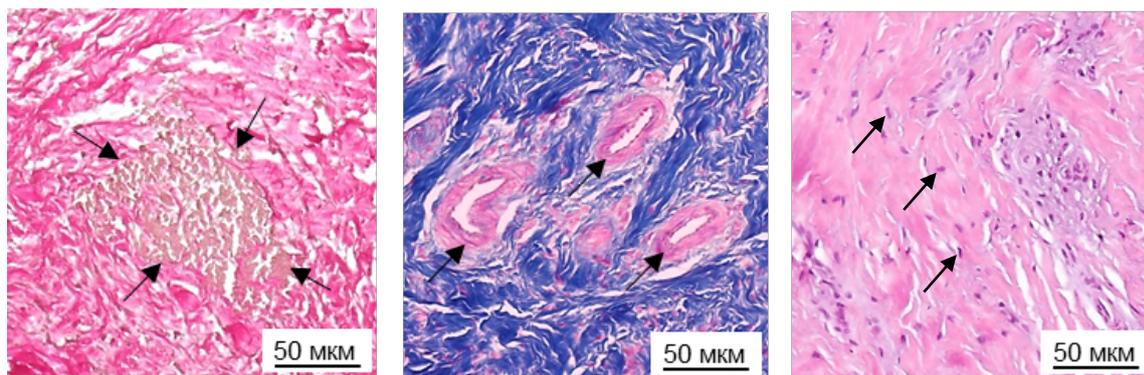
### ***Получение биоптатов***

В гистологическом исследовании участвовали 76 пациентов. Были взяты образцы тканей (биоптаты) из зон регенерации мягких тканей после применения ССТ с нёба и бугра, а также коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix. 31 пациенту была проведена операция с использованием ССТ с нёба, 14 пациентам с применением ССТ с бугра, у 17 пациентов использовали Fibro-Gide, у 14 — FibroMatrix. Кроме того, были исследованы остаточные зоны ССТ у некоторых пациентов перед проведением аутотрансплантации.

### ***Методы окраски гистологических препаратов***

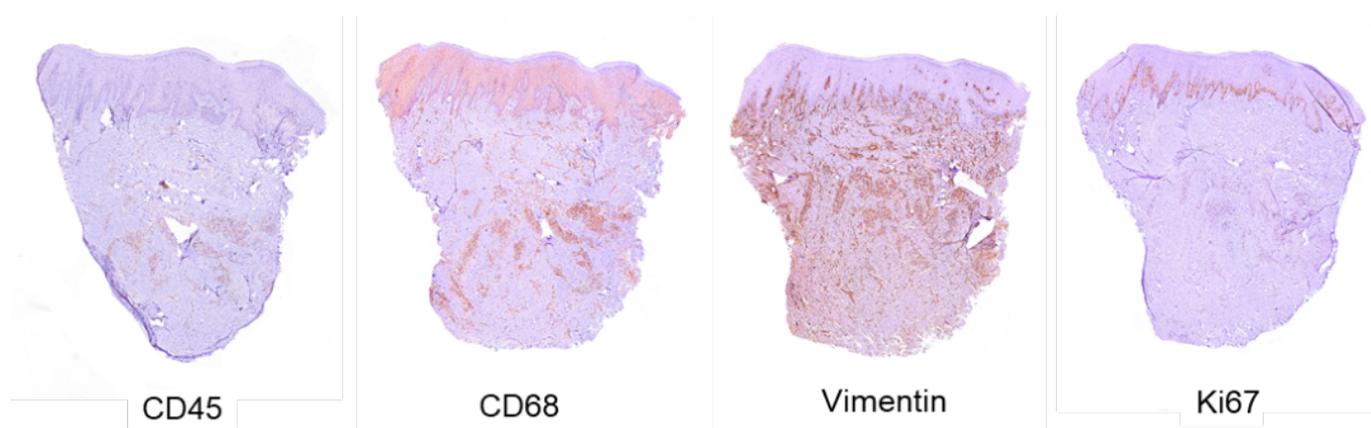
Первым этапом срезы толщиной 5-10 мкм, изготовленные из парафиновых блоков, окрашивали красителями. Окраска по Ван Гизону выявляла различия волокон соединительной ткани и остатков коллагеновых материалов. Окраска по Массону

позволила увидеть стенки сосудов в соединительной ткани, а по окраске гематоксилином и эозином подсчитывали количество клеток (Рисунок 7).



**Рисунок 7** — Используемые окраски по Ван Гизону, по Массону, гематоксилином и эозином, стрелками указаны остатки коллагеновых матриц, сосуды и фибробласты

Дифференцировка клеточного состава была дополнительно выявлена с помощью иммуногистохимических (ИГХ) окрасок (Рисунок 8).



**Рисунок 8** — ИГХ окраски, объектив с увеличением  $\times 10$

### ***Морфометрия***

Морфометрию провели с учётом общепринятых рекомендаций [Dempster D.W. et al., 2013; Автандилов Г.Г., 1990]. Изображения сегментировали, измерение относительной площади сосудов, соединительной и жировой ткани, остатков коллагеновых матриц и клеточного состава проводили с помощью программы Adobe Photoshop v21 и ImageJ v.2 (США). Полученные данные морфометрии каждого среза переносили в Microsoft Excel 2021(США), где выполняли подготовку таблиц для статистического анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Результаты клинического исследования

Статистически значимой неоднородности в распределении по полу, возрастной группе, фенотипу десны и изначальной ширины прикрепленных тканей в группах выявлено не было. Это свидетельствовало о том, что распределение пациентов в группах было сопоставимым.

#### Оценка толщины мягких тканей

По результату оценки толщины мягких тканей, наибольшая толщина образуется при применении ССТ из области бугра, наименьшая при использовании FibroMatrix. Через 6 мес. после операции по сравнению со сроком 3 мес., было установлено, что в группах, где применялись ССТ, произошло увеличение толщины десны, в то время как в группах с использованием коллагеновых матриц наблюдалось уменьшение толщины десны (Рисунок 9).

Сравнение методов определения толщины мягких тканей показало идентичность результатов, что говорит о том, что методы сопоставимы и взаимозаменяемы, а опасения насчёт изгиба инструмента напрасны.

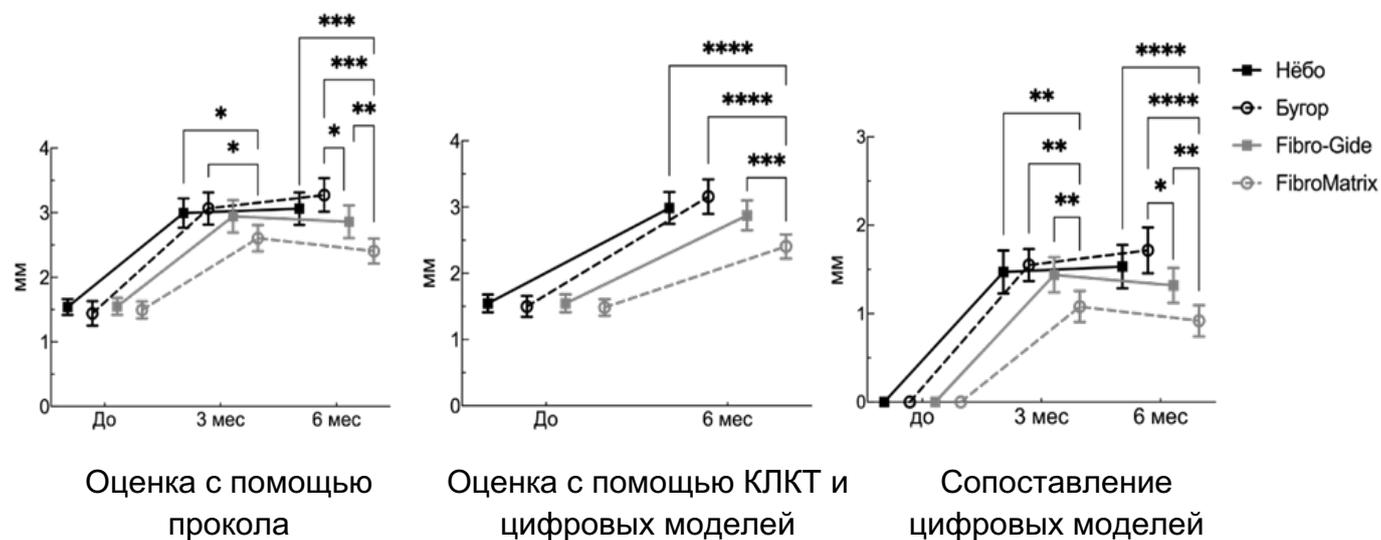
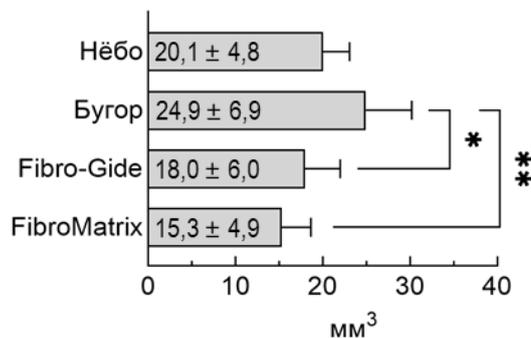


Рисунок 9 — Результаты оценки толщины мягких тканей

#### Оценка объёма мягких тканей

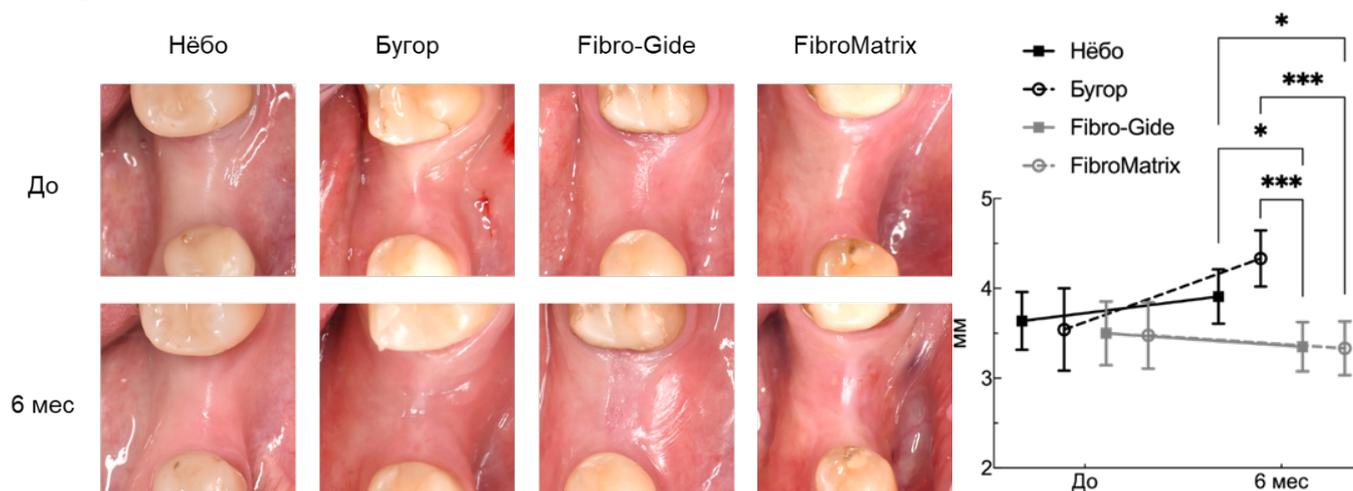
Наибольший объём мягких тканей был получен в группе с применением ССТ из области бугра, наименьший объём был получен в группе с использованием матрикса FibroMatrix (Рисунок 10).



**Рисунок 10** — Результаты оценки объёма мягких тканей

### *Ширина прикреплённых тканей*

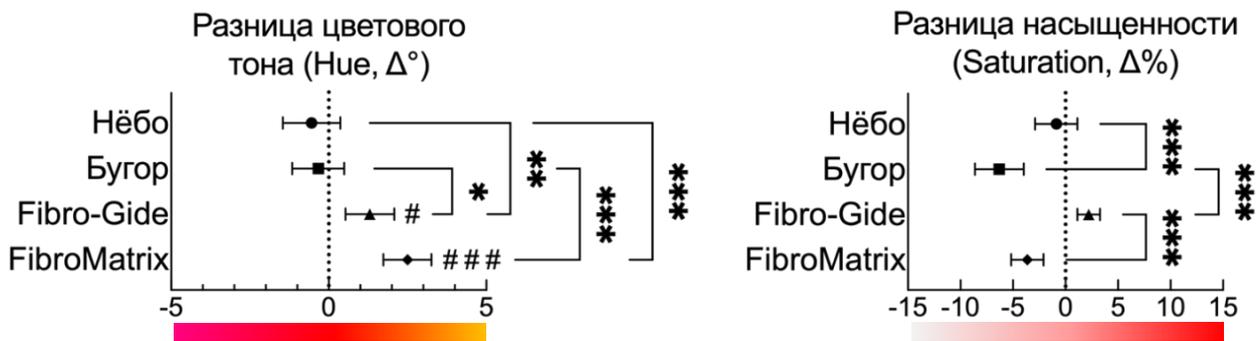
Среднее значение ширины прикреплённой десны через 6 мес. после операции в области применения ССТ с нёба и бугра увеличилось, а в области применения коллагеновых матриц уменьшилось по сравнению со значением до операции (Рисунок 11).



**Рисунок 11** — Изменение ширины прикреплённых тканей

### *Результаты определения цвета мягких тканей*

По результату оценки цветового тона (Н), статистически значимые различия были между группами с использованием ССТ с нёба —  $(-0,5 \pm 0,4)^\circ$  и коллагеновыми матриксами Fibro-Gide и FibroMatrix —  $(1,3 \pm 0,4)^\circ$  и  $(2,5 \pm 0,4)^\circ$  соответственно, и ССТ с бугра —  $(-0,3 \pm 0,4)^\circ$  и Fibro-Gide и FibroMatrix (Рисунок 12).

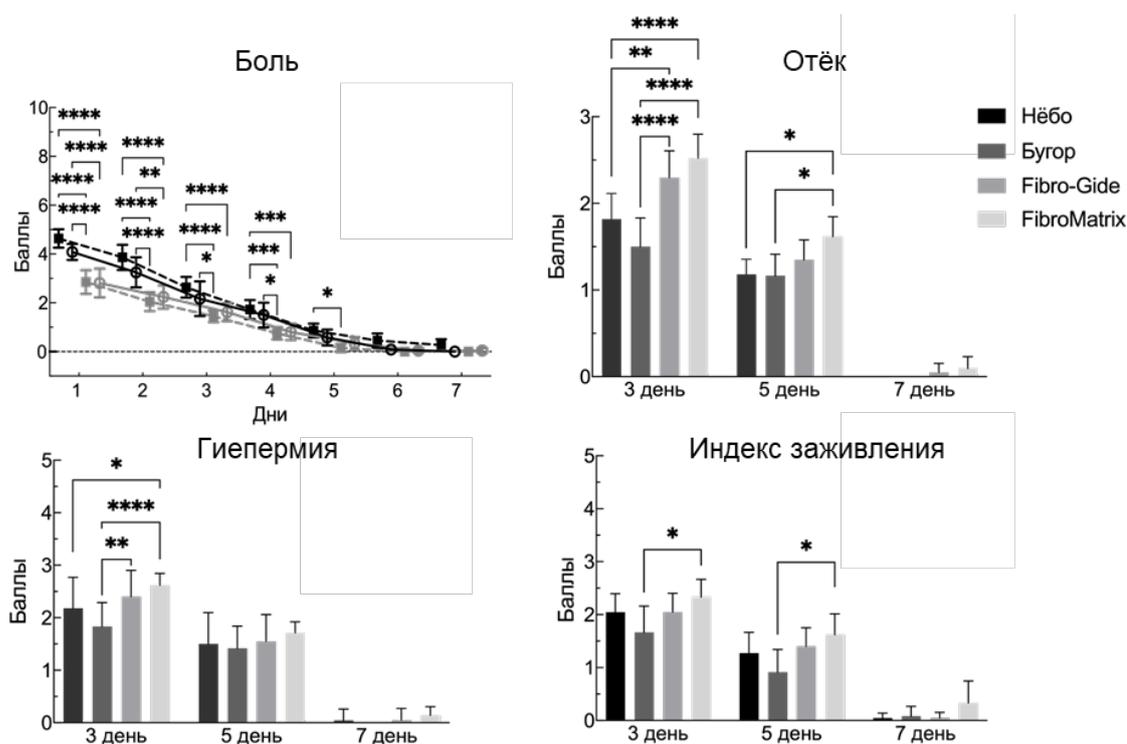


Примечание: # — статистически значимая разница в цветовом тоне по сравнению с соседними зонами, \* — межгрупповые различия

**Рисунок 12** — Разница цветового тона и насыщенности в цветовой модели HSB

### *Результаты оценки послеоперационного периода*

В отношении болевых ощущений были выявлены статистически значимые различия между группами, в которых применялись ССТ, и группами, где использовались коллагеновые матрицы. Различия наблюдались в течение первых пяти дней после проведения операции. В свою очередь, отёчность и гиперемия слизистой оболочки были более выраженными в группах, где применялись коллагеновые матрицы, по сравнению с группами, в которых использовались ССТ, на протяжении пяти дней наблюдения (Рисунок 13).

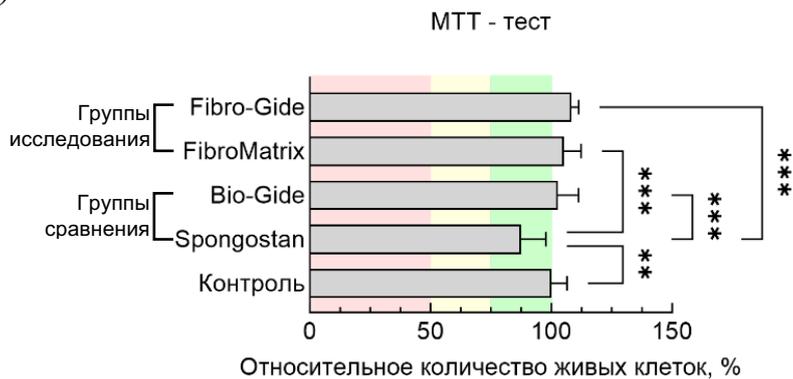


**Рисунок 13** — Результаты оценки послеоперационного периода

## Результаты гистологического и клеточного исследования

### Оценка свойств материалов *in vitro*

МТТ-тест показал, что коллагеновые матриксы положительно влияют на пролиферативный потенциал клеточной культуры. Клетки прикреплялись ко всем изучаемым образцам материалов. В коллагеновых матриксах и коллагеновой губке они обнаруживались как на поверхности, так и внутри материала уже в первые сутки. Плотность распределения клеток в матриксах была выше, чем в коллагеновой губке (Рисунок 14).

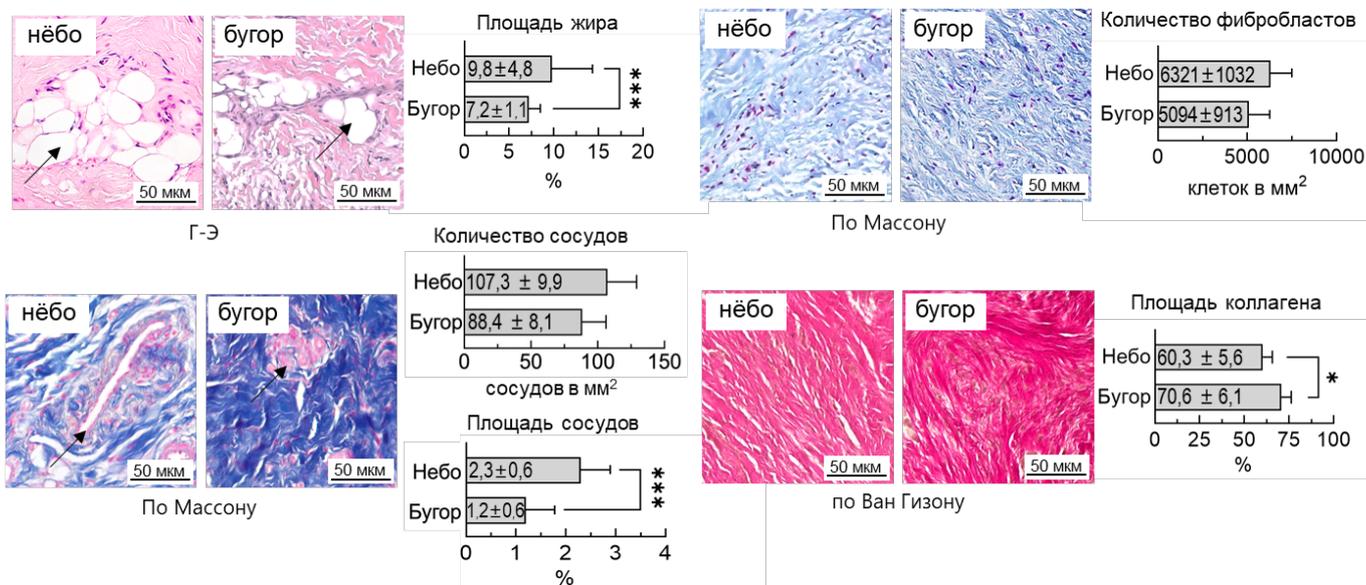


**Рисунок 14** — Результаты МТТ-теста

На сканирующей электронной микроскопии материал FibroMatrix выглядел более плотным, а Fibro-Gide – более рыхлым. После 7-суточной экспозиции в воде FibroMatrix поглощал больше воды, чем Fibro-Gide. При сжатии образцы не проявляли упругих свойств, напоминая вату, а не губку. Сухой Fibro-Gide сопротивлялся нагрузке лучше, чем FibroMatrix. После впитывания воды его способность выдерживать нагрузку снижалась, и различия между группами становились незначительными.

### Результаты морфометрии исходных трансплантатов из области нёба и бугра

Гистологическая оценка трансплантатов из области твёрдого нёба и бугра верхней челюсти показала, что удельный объём кровеносных сосудов в трансплантатах из твёрдого нёба больше, но статистически значимой разницы по количеству сосудов нет. При этом относительная площадь коллагена в образцах из бугра верхней челюсти оказалась статистически значимо больше. По количеству фибробластов статистически значимых различий не выявили, но отметили тенденцию к большему числу фибробластов в трансплантатах с бугра. Жировая ткань чаще встречалась в трансплантатах из области твёрдого нёба и в отдельных случаях составляла до 16% их площади (Рисунок 15).



**Рисунок 15** — Морфометрия трансплантатов из области нёба и бугра до их трансплантации, стрелками отмечены жировые включения и сосуды, *объектив с увеличением x40*

### ***Результаты морфометрии регенератов мягких тканей после трансплантации или использования коллагеновых матриц***

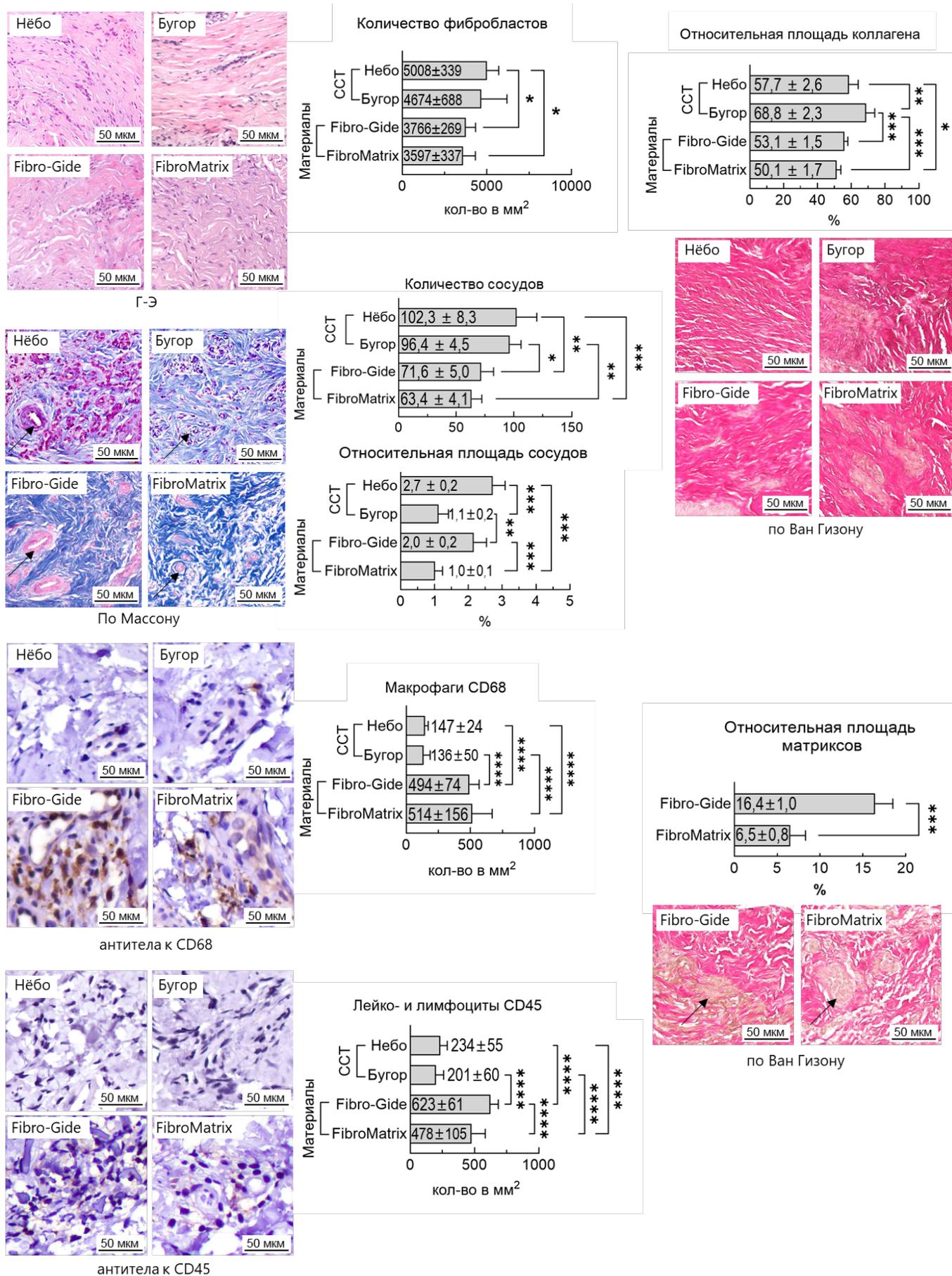
Подсчёт фибробластов показал, что в области применения ауто трансплантатов количество клеток на единицу площади больше, чем в зоне использования коллагеновых матриц (Рисунок 16).

Количество сосудов было наибольшим в группах с использованием ССТ с нёба и бугра, была выявлена статистически значимая разница с группами, где применяли коллагеновые матрицы. Относительный объём сосудов в группах с использованием ССТ с нёба и Fibro-Gide был выше, чем в остальных группах.

Наибольшее содержание коллагена зафиксировано в группе с применением ССТ с бугра. Отличие от остальных групп было статистически значимым. В группе с использованием ССТ с нёба содержание коллагена было статистически значимо больше, чем в группе FibroMatrix.

Спустя три месяца после операции в мягких тканях всё ещё присутствуют фрагменты имплантированного коллагенового матрикса. В биоптатах удельная площадь остатков FibroMatrix меньше от общего объёма по сравнению с остатками матрикса Fibro-Gide.

ИГХ-исследование показало, что при использовании ССТ инфильтрация мягких тканей макрофагами и лейко- и лимфоцитарными клетками меньше, чем при применении коллагеновых матриц. Количество фибробластов существенно не различалось, но в областях с остатками коллагеновых матриц было больше делящихся клеток. Это указывает на незавершённость регенерации в этих областях (Рисунок 16).



**Рисунок 16** — Морфометрия регенератов мягких тканей, стрелками отмечены сосуды и остатки коллагеновых матриксов, объектив с увеличением  $\times 40$

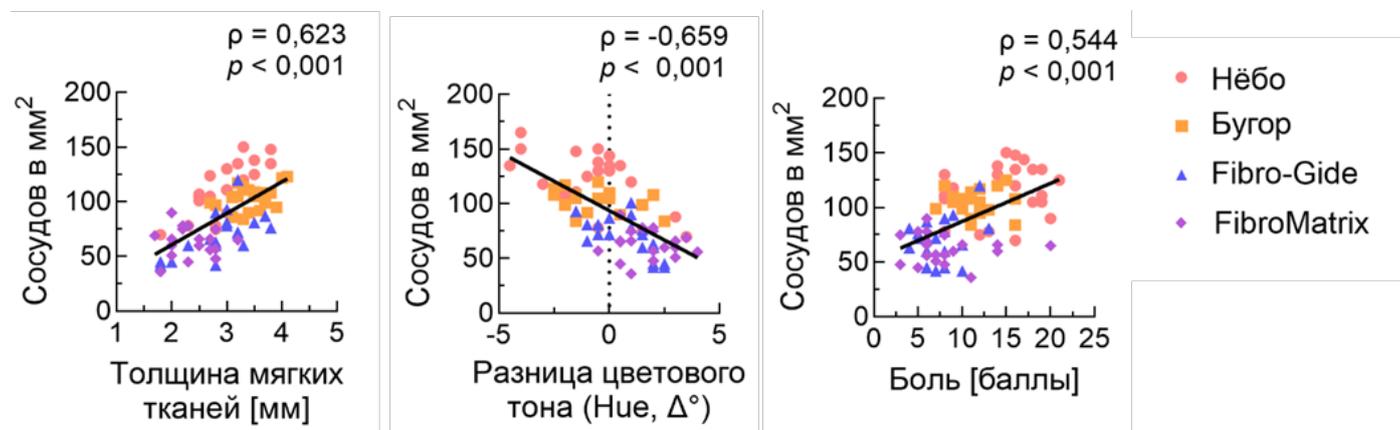
## Взаимосвязь клинических параметров с гистологической структурой регенератов мягких тканей

Для оценки взаимосвязи клинических и гистологических параметров был использован корреляционный анализ. Была оценена зависимость клинических параметров: толщина мягких тканей, разница цветового тона, объём мягких тканей, послеоперационные боль и отёк — от таких гистологических параметров, как количество сосудов в  $\text{мм}^2$ , относительная площадь сосудов, количество фибробластов на единицу площади, относительная площадь коллагена и относительная площадь остатков коллагеновых матриц (Рисунок 17, 18).

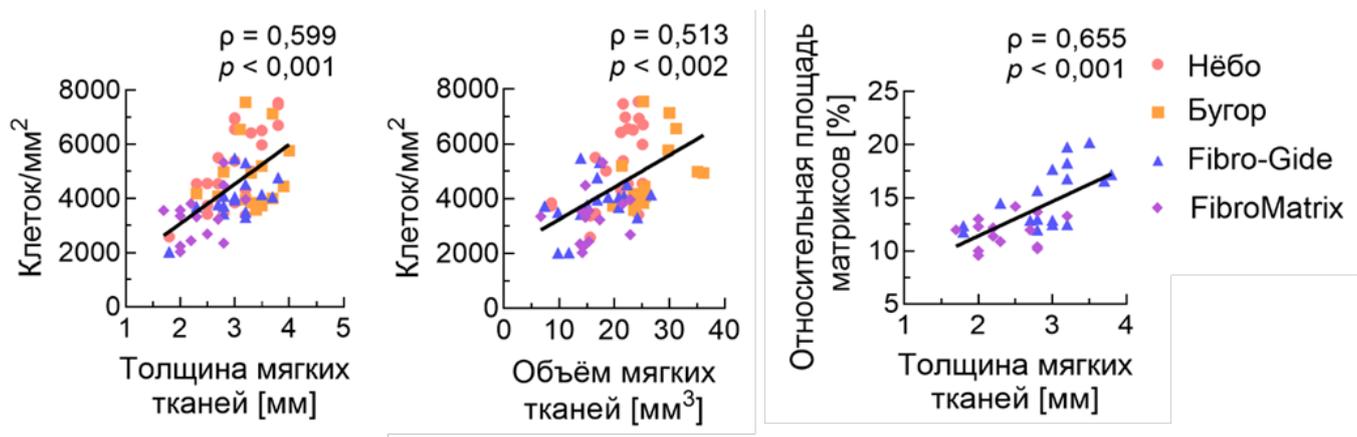
При сопоставлении клинических и гистологических данных обнаружена статистически значимая средняя корреляция между относительным количеством сосудов и толщиной мягких тканей: увеличение толщины сопровождалось ростом количества сосудов. Также выявлена статистически значимая отрицательная корреляция между числом сосудов и разницей в цвете регенерата слизистой над имплантатом и десны соседних зубов: при меньшем количестве сосудов ткани имели более жёлтый оттенок, а при увеличении числа сосудов — более красный. Кроме того, установлена статистически значимая средняя корреляция между количеством сосудов и интенсивностью боли в послеоперационный период: усиление болезненности было связано с увеличением количества сосудов (Рисунок 17).

Увеличение толщины и объёма мягких тканей было связано с увеличением относительного количества клеток в регенерате. Так, была выявлена статистически значимая средняя положительная корреляция между количеством клеток на единицу площади и толщиной, и объёмом мягких тканей (Рисунок 18).

Была выявлена статистически значимая средняя корреляция между относительной площадью остатков матриц и толщиной мягких тканей. Так, увеличение толщины мягких тканей было связано с бóльшим количеством остатков матриц в регенерате (Рисунок 18).



**Рисунок 17** — Корреляции клинических параметров с количеством сосудов в  $\text{мм}^2$



**Рисунок 18** — Корреляции клинических параметров с количеством фибробластов в мм<sup>2</sup> и относительной площадью матриц

В рамках проведённой работы впервые проведено сопоставление клинических и гистологических параметров мягких тканей после использования коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра верхней челюсти. Результаты исследования вносят вклад в концепцию регенерации мягких тканей рта. Они объясняют различия в клинических признаках, которые наблюдаются при использовании свободных соединительнотканых трансплантатов и искусственных заменителей десны.

Эти результаты помогут стоматологу оценить потенциал прироста мягких тканей и эстетический результат на этапе планирования увеличения объёма мягких тканей при дентальной имплантации. Полученные данные также могут быть полезны при создании и изучении биологически активных материалов, используемых для наращивания толщины мягких тканей слизистой оболочки рта. Кроме того, они могут найти применение при разработке новых методов лечения атрофии мягких тканей рта и улучшении существующих подходов в стоматологии.

## ВЫВОДЫ

1. После использования свободных соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра происходит больший прирост толщины мягких тканей, чем при использовании коллагеновых матриц, который составляет  $(1,6 \pm 0,3)$  мм и  $(1,7 \pm 0,6)$  мм у трансплантатов из области нёба и бугра соответственно против  $(1,3 \pm 0,4)$  мм у матрикса Fibro-Gide и  $(0,9 \pm 0,4)$  мм у матрикса FibroMatrix.

2. Использование свободных соединительнотканых трансплантатов из области нёба и бугра не приводит к значимым отличиям в цветовом тоне слизистой оболочки по сравнению с использованием коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMatrix, при использовании которых слизистая оболочка обретает более жёлтый цветовой тон (разница цветового тона по шкале HSB  $(1,3 \pm 0,4)^\circ$  и  $(2,5 \pm 0,4)^\circ$  соответственно).

3. Более выраженная боль при сопоставимом индексе заживления, но меньший коллатеральный отёк наблюдаются при использовании свободных

соединительнотканых трансплантатов по сравнению с использованием коллагеновых матриксов.

4. На цитосовместимые свойства коллагеновых матриксов, а именно на проникновение и пролиферацию прогениторных клеток соединительной ткани, влияет прочность волокон при меньшей их плотности и водопоглощении.

5. В донорской зоне нёба по сравнению с донорской зоной бугра больший относительный объём сосудов —  $(9,8 \pm 4,8)\%$  против  $(1,2 \pm 0,6)\%$ , и жировой ткани —  $(2,3 \pm 0,6)\%$  против  $(1,2 \pm 0,6)\%$ , но меньший относительный объём коллагена —  $(60,1 \pm 5,6)\%$  против  $(70,6 \pm 6,1)\%$  соответственно.

6. Регенераты мягких тканей частично сохраняют особенности строения донорских зон: использование трансплантатов с нёба по сравнению с бугром приводит к образованию большего относительного объёма сосудов, но меньшего относительного объёма коллагена. Применение матриксов Fibro-Gide и FibroMatrix способствует формированию меньшего количества сосудов и относительного объёма коллагена в сравнении с ауто трансплантатами.

7. Меньшая толщина мягких тканей и их более выраженный жёлтый оттенок после применения коллагеновых матриксов в сравнении со свободными соединительноткаными трансплантатами обусловлены меньшим количеством сосудов, формирующихся в регенерате. Меньшая толщина регенерата также связана с меньшей плотностью фибробластов.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При использовании коллагеновых матриксов для создания минимально необходимого объёма мягких тканей в области дентальных имплантатов следует учитывать потенциал прироста толщины мягких тканей при их использовании:  $(1,3 \pm 0,4)$  мм для Fibro-Gide и  $(0,9 \pm 0,4)$  мм для FibroMatrix.

2. Для создания минимально необходимой толщины мягких тканей вокруг дентального имплантата в 3 мм, следует учитывать, что при применении коллагеновых матриксов изначальная толщина мягких тканей должна превышать 1,5 мм, в то время как использование свободных соединительнотканых трансплантатов возможно при меньшей исходной толщине.

3. В эстетически значимой зоне предпочтительнее использовать соединительнотканые трансплантаты, так как цветовой тон регенерата мягких тканей при их использовании минимально отличается от десны рядом стоящих зубов.

4. Использование коллагеновых матриксов как замену свободных соединительнотканых трансплантатов предпочтительно у пациентов с низким болевым порогом и пациентов с ограниченной донорской зоной.

5. Рекомендуется использовать коллагеновые матриксы при широкой зоне прикреплённой десны, так как их использование уменьшает ширину прикреплённых тканей.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Относительная выживаемость и адгезия мультипотентных мезенхимальных клеток из пульпы молочных зубов на поверхности мембран и губок, производимых из коллагена / Бадалян В.А., Васильев А.В., Степанян З.М., **Посессор А.Д.**, Бухарова Т.Б., Гольдштейн Д.В. // *Стоматология*. 2023;102(3):5-10.
2. Морфологическая характеристика десны после применения коллагеновых матриц Fibro-Gide и FibroMATRIX и соединительнотканых трансплантатов в области дентальной имплантации / **Посессор А.Д.**, Васильев А.В., Бадалян В.А., Бабиченко И.И. // *Гены и клетки*. 2024 Т. 19, № 4.
3. Методы исследования объемных изменений мягких тканей в области дентальных имплантатов и рецессий зубов / Бадалян В.А., **Посессор А.Д.**, Степанян З.М., Захарова А.И., Левонян Э.А. // *Стоматология*. 2023;102(6.2):51-54.
4. Результаты увеличения толщины мягких тканей после использования коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов / **Посессор А.Д.**, Бадалян В.А., Васильев А.В. // *Стоматология*. 2024;103(6.2):29-32.
5. Use of volume-stable collagen matrix for soft tissue augmentation at teeth and dental implants site / Badalyan K, **Posessor A**, Stepanyan Z, Levonyan E, Melkumyan I. // *Georgian Med News*. 2022;(328-329):38-42.
6. Сравнительная характеристика десны после применения коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов в области дентальной имплантации / **Посессор А.Д.** // *Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине [электронный ресурс]; Санкт-Петербург, 13–15 ноября 2024 г.* Санкт-Петербург: Эко-Вектор, 2024. 1157 с.
7. Применение коллагеновых матриц и соединительнотканых трансплантатов при дефиците объема десны в области дентальных имплантатов. / **Посессор А.Д.** // *Сборник материалов XLV (45) Итоговой научной конференции молодых ученых МГМСУ имени А.И. Евдокимова*. 2023:73-74.
8. Сравнительная оценка различных коллагеновых матриц и соединительнотканного трансплантата для увеличения объема десны в области имплантатов. Достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Наука и практика. / **Посессор А.Д.** // *Материалы XIV научно-практической конференции молодых ученых «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии»*. *Стоматология*. 2023;102(3):89-100.
9. Тезисы XV научно-практической конференции молодых ученых «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии», посвященной памяти профессора В.М. Безрукова. / **Посессор А.Д.** // *Стоматология*. 2024;103(3):67-79.