

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Благушина Наталия Алексеевна

**Сравнительный анализ применения биорезорбируемых мембран из  
ксеноперикарда и коллагеновой пленки при закрытии послеоперационных  
дефектов слизистой оболочки рта (экспериментальное исследование)**

14.01.14 – Стоматология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

Тарасенко Светлана Викторовна

Москва – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
<b>ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ОТКРЫТЫХ РАН</b>	
<b>СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....</b>	<b>17</b>
1.1. Современные представления о течении регенеративного процесса в слизистой оболочке рта.....	17
1.2. Способы стимуляции регенеративного процесса в слизистой оболочке рта.....	27
1.3. Способы закрытия донорской зоны при проведении оперативных вмешательств на слизистой оболочке рта.....	37
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>51</b>
2.1. Характеристика экспериментального исследования.....	51
2.2. Оценка течения раневого процесса в донорской зоне.....	54
2.3. Распределение животных по группам экспериментального исследования.....	55
2.4. Характеристика используемых материалов.....	56
2.4.1. Характеристика коллагеновой мембраны из ксеноперикарда.....	57
2.4.2. Характеристика модифицированной коллагеновой пленки.....	59
2.5. Методы проведения хирургических вмешательств.....	61
2.6. Гистологический метод исследования.....	65
2.7. Статистические методы обработки.....	66
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>68</b>
3.1. Результаты оценки течения раневого процесса в донорской зоне.....	68
3.2. Результаты гистологического метода исследования.....	87
3.2.1. Результаты гистологического исследования группы сравнения.....	87
3.2.2. Результаты гистологического исследования группы 1.....	93
3.2.3. Результаты гистологического исследования группы 2.....	104
3.2.4. Результаты гистоморфометрического исследования.....	109

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	114
ВЫВОДЫ.....	124
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	128

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

В последние десятилетия одной из распространенных проблем в рамках хирургической стоматологии является проблема дефицита зоны прикрепленной десны (Февралева А.Ю., 2007; Эристов З.А. и соавт., 2013; Антипова Е.В., Пономарев О.Ю., 2016; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Едранов С.С., Керзиков Р.А., 2017; Шашурина С.В., 2017; Ашурко И.П. и соавт., 2019; Тарасенко С.В. и соавт., 2019; Дурново Е.А. и соавт., 2020; Kissa J. et al., 2017; Thoma D.S. et al., 2018; Dias J.J. et al., 2020; Zucchelli G. et al., 2020; Tavelli L. et al., 2021; Vlachodimou E. et al., 2021).

Использование свободного десневого трансплантата (СДТ) является наиболее часто применяемым и предсказуемым методом увеличения ширины прикрепленной десны (Трофимов А.С., 2009; Смбатян Б.С. и соавт., 2011; Долгалев А.А. и соавт., 2017; Едранов С.С., Керзиков Р.А., 2017; Амхадова М.А., Фролов А.М., 2018; Almeida A.L. et al., 2009; Shanmugam M. et al., 2010; Kulkarni M.R. et al., 2014; Yaghobee S. et al., 2018; Lafzi A. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020). СДТ используют для увеличения зоны кератинизированной десны, предотвращения и лечения рецессии десны, при проведении вестибулопластики (Амхадова М.А. и соавт., 2015; Беспалова Н.А. и соавт., 2015; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Дурново Е.А. и соавт., 2018; Николаев А.В., 2018; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Silva C.O. et al., 2010; Yaghobee S. et al., 2018; Amaliya A. et al., 2019; Kadkhoda Z. et al., 2020). Впервые технику получения свободного десневого трансплантата описали в 1968 году Sullivan H.C., Atkins J.H. Данная техника оказалась простой в исполнении и достаточно предсказуемой для получения кератинизированных тканей, однако показала выраженный послеоперационный болевой синдром в связи с созданием раневой поверхности на твердом небе, которая заживает вторичным натяжением в среднем

от двух до четырех недель (Мочалова Д.А., 2015; Рябова Д.А. и соавт., 2016; Shanmugam M. et al., 2010; Aguirre-Zorzano L.A. et al., 2017; Yaghobee S. et al., 2018; Belkhede S.G. et al., 2019; Amaliya A. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020).

Применение СДТ имеет ряд серьезных недостатков: создание второго операционного поля, что способствует усилению послеоперационного болевого синдрома; ограниченное количество трансплантата; риск развития интра- и послеоперационных осложнений (Kulkarni M.R. et al., 2014; Bertl K., et al., 2017; Chiu T.S. et al., 2020). Наиболее часто развивающиеся послеоперационные осложнения включают в себя болевой синдром, кровотечение, некроз слизистой оболочки и обнажение костной ткани. Данные осложнения связаны в большинстве случаев с открытым ведением раны, которая легко травмируется пищевым комком, испытывает термическое и химическое воздействие, бактериальную контаминацию. Все эти факторы снижают скорость формирования грануляционной ткани и эпителизации раневой поверхности, а также могут способствовать формированию рубцовых изменений (Мочалова Д.А., 2015; Дурново Е.А. и соавт., 2018; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Shanmugam M. et al., 2010; Silva C.O. et al., 2010; Firat E.T. et al., 2014; Dias S.B et al., 2015; Keceli H.G. et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016; Amaliya A. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019).

В попытке минимизировать послеоперационный болевой синдром, связанный с техникой получения СДТ, было предложено проводить забор только соединительнотканного трансплантата (Амхадова М.А., Фролов А.М., 2018; Aguirre-Zorzano L.A. et al., 2017; Chiu T.S. et al., 2020). Субэпителиальные соединительнотканые трансплантаты (ССТ) также получили широкое распространение в пластической хирургической пародонтологии: при лечении рецессий десны они зарекомендовали себя как «золотой стандарт» (Баулин И.М., 2015; Беспалова Н.А. и соавт., 2015; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Chambrone L. et al., 2012; Aguirre-Zorzano L.A. et al., 2017; Puri K. et al., 2019), также их используют для увеличения высоты и толщины кератинизированной десны, для коррекции десневого края и беззубых участков альвеолярного гребня, а с развитием

методики одномоментной имплантации нашли свое применение и в данном направлении хирургической стоматологии (Langer B., Calagna L.J., 1982; Wessel J.R., Tatakis D.N., 2008; Kan J.Y. et al., 2009; Santamaria M.P. et al., 2009; Reino D.M. et al., 2013).

Одним из способов получения ССТ является техника люка, описанная Edel A. в 1974 году: создание расщепленного трапециевидного небного лоскута с последующим забором соединительной ткани. Однако при такой технике нарушается васкуляризация лоскута, что приводит к замедленному заживлению донорской зоны (Reino D.M. et al., 2013). Другим методом, предложенным для получения ССТ, является получение свободного десневого трансплантата и его последующая деэпителизация (Bosco A.F., Bosco J.M., 2007). По мнению McLeod D.E. et al. (2009) данная техника считается достаточно сложной, поскольку трудно провести рассечение полученного трансплантата. Данный метод вызывает значительный дискомфорт для пациента, поскольку донорская зона остается открытой и заживление происходит вторичным натяжением (Reino D.M. et al., 2013). В попытке уменьшить воздействие на донорскую зону и улучшить заживление раны на твердом небе были предложены и другие методики: был описан дизайн разреза для получения ССТ с эпителиальной полоской (Raetzke P.V., 1985), техника параллельных разрезов (Harris R.J., 1992), а также разработана техника одного разреза (Bruno J.F., 1994). Эти методы значительно снижают послеоперационный болевой синдром у пациентов, однако могут привести к образованию «пустоты» в донорской зоне, что зачастую требует длительных периодов времени для полноценной регенерации тканей (Lorenzana E.R., Allen E.P., 2000; Reino D.M. et al., 2013). Согласно исследованиям, в которых проводили сравнение послеоперационного периода после использования различных техник получения ССТ, наиболее распространенными осложнениями со стороны донорской зоны были выраженный болевой синдром, воспаление, кровотечение, некроз слизистой оболочки и присоединение вторичной инфекции (Шашурина С.В., 2017; Roman A. et al., 2012; Fickl S. et al., 2014; Kulkarni M.R. et al., 2014;

Zucchelli G. et al., 2014; Burkhardt R. et al., 2015; Femminella B. et al., 2016; Aguirre-Zorzano L.A. et al., 2017; Puri K. et al., 2019).

Лечение открытых ран в полости рта является весьма сложной задачей, при которой невозможно полностью изолировать раневую поверхность от неблагоприятного влияния механических, химических и физических факторов, а также от проникновения микроорганизмов. Из-за постоянного омывания раны ротовой жидкостью затруднено применение фармакологических препаратов, обеспечивающих анальгезирующее, антибактериальное, противовоспалительное и репаративное действие (Кабалоева Д.В., 2010; Зорина О.А. и соавт., 2014; Токмакова С.И. и соавт., 2014; Молчанов А.М., 2016; Тирская О.И. и соавт., 2018; Тарасенко С.В. и соавт., 2019; Коняева А.Д. и соавт., 2020; Graves D.T. et al., 2001; Ballestas S.A. et al., 2019; Lee K. et al., 2019).

В литературе отмечаются достаточно разнообразные данные о методах закрытия донорского участка на твердом небе после получения СДТ и ССТ. Предложены разнообразные методы воздействия на раневую поверхность на твердом небе, такие как лазерное излучение, обработка раневой поверхности экстрактами лекарственных растений, обогащенной тромбоцитами плазмой и факторами роста, использование культуры клеток фибробластов (Воложин А.И. и соавт., 2011; Мочалова Д.А., 2015; Тарасенко С.В. и соавт., 2019; Kulkarni M.R. et al., 2014; Keskiner I. et al., 2016; Sahrakary M. et al., 2017; Martelloni M. et al., 2019; Toledano M. et al., 2020). Продолжаются работы по модификации методов получения трансплантата и ушивании донорской зоны, а также модификации различных защитных пластин для неба (Reino D.M. et al., 2013; Ksv R. et al., 2014; Aguirre-Zorzano L.A. et al., 2017; Puri K. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020). Широкое применение получили различные природные и синтетические материалы, которые фиксируют к раневой поверхности: для этих целей используют амниотическую мембрану, желатин, коллагеновые и полимерные матрицы, тканеинженерные конструкции (Зорина О.А. и соавт., 2014; Рябова Д.А. и соавт., 2016; Тимошин А.В. и соавт., 2018; Морозов А.М. и соавт., 2020; Häkkinen L. et al., 2014; Bertl K., et al., 2017; Guo B. et al., 2020). Все вышеперечисленные способы направлены на

повышение скорости регенеративного процесса, снижение вероятности развития послеоперационного кровотечения и других осложнений (Рябова Д.А. и соавт., 2016; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Zhu T. et al., 2015; Sezgin Y. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020).

В связи с этим, представляет интерес провести сравнительный анализ применения биорезорбируемых коллагеновых мембран в комбинации с левомицетином и метилурацилом в условиях эксперимента.

### **Степень разработанности темы исследования**

В настоящее время нет научно подтвержденного мнения, какова должна быть минимальной ширина кератинизированной десны вокруг зубов (Bertl K., et al., 2017). Принято считать, что данный показатель не является необходимым для поддержания здоровья тканей пародонта и/или предотвращения развития рецессии десны, если пациент обладает хорошим уровнем гигиены полости рта. В случае неудовлетворительных показателей гигиены и/или необходимости проведения субмаргинальной реставрации, рекомендуется наличие минимум 2 мм кератинизированной ткани: около 1 мм свободной десны и 1 мм прикрепленной десны (Kim D.M., Neiva R., 2015; Bertl K., et al., 2017). Следовательно, у таких пациентов, у которых ширина кератинизированной десны не превышает 2 мм, следует рассматривать проведение пластических пародонтологических вмешательств для увеличения параметров мягких тканей (Scheyer E.T. et al., 2015).

Для увеличения ширины кератинизированной десны с точки зрения апико-коронального размера было разработано значительное число методик хирургических вмешательств. К ним относятся различные конструкции лоскута, обычно в сочетании с аутогенной трансплантацией мягких тканей. В систематических обзорах и проведенных мета-анализах было показано, что при сравнении апикально смещенного лоскута, апикально смещенного лоскута в сочетании со свободным десневым трансплантатом с неба и апикально смещенного лоскута в комбинации с заменителями мягких тканей наибольший прирост



кератинизированной ткани отмечается при использовании СДТ (Дурново Е.А. и соавт., 2013; Амхадова М.А. и соавт., 2015; Ашурко И.П., 2016; Ашурко И.П. и соавт., 2019; Bertl K., et al., 2017).

Несмотря на значительное количество материалов и методов воздействия на раневую поверхность твердого неба после получения десневых трансплантатов, «золотой стандарт» в ведении открытых ран так и не был определен. Поэтому разработка материалов и усовершенствование методов лечения, способствующих регенерации слизистой оболочки рта в зоне раневых дефектов, является актуальной задачей для хирургического лечения пациентов со стоматологическими заболеваниями (Рябова Д.А. и соавт., 2016; Тарасенко С.В. и соавт., 2019; Морозов А.М. и соавт., 2020; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Skoog S.A. et al., 2018; Guo B. et al., 2020).

Практическим обоснованием для выполнения диссертационного исследования является необходимость объективной оценки регенеративных процессов в области донорской зоны на твердом небе после получения десневого трансплантата и применения коллагеновых мембран для закрытия созданных раневых дефектов, определение наиболее эффективной методики ведения открытых ран с целью оптимизации протоколов ведения пациентов после пластических хирургических пародонтологических вмешательств.

### **Цель исследования**

Повышение эффективности хирургического лечения стоматологических пациентов путем экспериментальной разработки метода закрытия раневых дефектов слизистой оболочки рта с применением биорезорбируемых мембран из ксеноперикарда и коллагеновой пленки в комбинации с левомецетином и метилурацилом.

### **Задачи исследования**

1. Провести сравнительный анализ эффективности применения биорезорбируемых мембран из ксеноперикарда и коллагеновой пленки в комбинации с левомицетином и метилурацилом в эксперименте по данным исследования *ex vivo*.
2. По данным гистологического исследования определить различия в динамике регенерации мягких тканей при сочетанном применении коллагеновых биорезорбируемых мембран из натурального и реконструктивного ксеноперикарда в комбинации с левомицетином и метилурацилом.
3. По данным морфометрического анализа выявить точный клеточный состав регенератов в зависимости от используемой коллагеновой мембраны, что будет соответствовать принципам доказательной медицины.
4. Разработать метод закрытия раневого дефекта на слизистой оболочке рта биорезорбируемыми мембранами из ксеноперикарда и коллагеновой пленки в комбинации с левомицетином и метилурацилом в эксперименте.

### **Научная новизна работы**

В работе впервые получены данные сравнительного анализа изучения возможности применения коллагеновой мембраны из ксеноперикарда и коллагеновой пленки с левомицетином и метилурацилом при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки твердого неба лабораторных животных.

Впервые получены данные гистологического метода исследования раневых поверхностей, формирующихся под коллагеновой мембраной из ксеноперикарда и под коллагеновой пленкой, в области сформированного дефекта слизистой оболочки твердого неба в эксперименте и проведен сравнительный анализ строения регенерирующей слизистой оболочки после применения коллаген-содержащих материалов.

Впервые по данным проведенного экспериментального исследования и последующего гистологического исследования определены показания к применению коллагеновой мембраны из ксеноперикарда и коллагеновой пленки с левомецетином и метилурацилом для клиники.

### **Теоретическая и практическая значимость**

На основании сравнительного анализа результатов проведенного эксперимента, гистологических и гистоморфометрических методов исследования изучена динамика процессов заживления слизистой оболочки твердого неба после получения свободного десневого трансплантата с использованием коллагеновой мембраны из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом или коллагеновой пленки с левомецетином и метилурацилом.

Полученные данные наглядно демонстрируют эффективность коллаген-содержащих препаратов для закрытия открытых ран слизистой оболочки рта. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего клинического исследования и последующего внедрения в практическое здравоохранение, что будет способствовать эффективности лечения пациентов с дефицитом высоты и объема кератинизированной десны возле зубов и дентальных имплантатов с целью ускорения процессов регенерации и эпителизации дефектов слизистой оболочки после получения десневых трансплантатов.

Материалы диссертации могут быть использованы для образовательного процесса у студентов стоматологических факультетов медицинских университетов, а также в программах постдипломного обучения врачей по специальностям «Стоматология хирургическая» и «Челюстно-лицевая хирургия».

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Диссертационная работа была выполнена в соответствии с принципами и правилами доказательной медицины. В работе были использованы клинические,

гистологические и гистоморфометрические методы исследования. Объектом экспериментального исследования явились 36 кроликов породы Шиншилла. У животных на слизистой оболочке твердого неба формировали раневую поверхность размером 5x5 мм, которую ушивали при помощи коллагеновой мембраны из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом или коллагеновой пленки с левомецетином и метилурацилом. Предметом исследования явились клиническая и гистологическая оценка процессов заживления созданного дефекта слизистой оболочки твердого неба.

### **Основные научные положения, выносимые на защиту**

Коллагеновая мембрана из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом после прохождения клинического исследования может быть рекомендована к использованию у пациентов при проведении аугментации мягких тканей в области зубов и/или дентальных имплантатов для закрытия донорской зоны в области твердого неба при получении аутогенных свободных десневых трансплантатов.

Применение коллагеновой мембраны из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом способствует снижению интенсивности послеоперационного воспалительного процесса в донорской зоне на слизистой оболочке твердого неба, а именно снижению послеоперационного болевого синдрома, отека и гиперемии слизистой оболочки, кровоточивости слизистой оболочки, и стимулирует регенерацию раневой поверхности в эксперименте.

Гистологическое строение раневых поверхностей, полученных при закрытии дефекта слизистой оболочки коллагеновой мембраной из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом, характеризуется низкой степенью воспалительной инфильтрации тканей в раннем послеоперационном периоде и формированием и созреванием грануляционной ткани, что способствует реэпителизации раневой поверхности.

## Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность проведенного исследования определяется данными экспериментального исследования, проведением гистологического исследования на современном оборудовании с использованием соответствующего программного обеспечения, применением современных методов статистической обработки данных.

Основные положения диссертации были доложены на Межвузовской конференции аспирантов и молодых ученых «Актуальные вопросы стоматологии», посвященной 80-летию проф. В.С. Булгакова, первого заведующего кафедрой пропедевтики МИ РУДН (27 ноября 2019 года, Москва), II Международной научно-практической конференции «Европа – Азия. Сотрудничество без границ. Современные проблемы хирургии и смежных областей», посвященной 80-летию со дня рождения профессора Г.А. Гавриленко (6-7 декабря 2019 года, Оренбург), I международной научно-практической конференции молодых ученых-стоматологов (3 марта 2020 года, Москва, ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского), Национальном конгрессе с международным участием «Паринские чтения 2020-2021. Актуальные вопросы диагностики, лечения и диспансеризации пациентов с хирургической патологией черепно-челюстно-лицевой области и шеи» (6-7 мая 2021 года, Минск, Республика Беларусь), Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии» (27 мая 2021 года, Москва), II Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Современные достижения хирургической стоматологии» (15 октября 2021 года, Москва).

Апробация диссертационной работы проведена на совместном заседании кафедр хирургической стоматологии и кафедры челюстно-лицевой хирургии имени академика Н.Н. Бажанова Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (г. Москва, 02.03.2022, протокол № 12).

## **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования включены в лекционный курс и практические занятия обучающихся Образовательного департамента Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## **Личный вклад автора в выполнение работы**

Автор принимал непосредственное участие в проведении экспериментальной части исследования: были проведены оперативные вмешательства по созданию модели раневой поверхности на твердом небе у 36 экспериментальных животных и ее ушивание с применением исследуемых коллагенсодержащих препаратов. Автором были получены биоптаты слизистой оболочки из области созданного дефекта для выполнения гистологической оценки эффективности исследуемых материалов. Систематизация полученных данных и последующая статистическая обработка проведены лично автором.

## **Публикации**

По результатам исследования автором опубликовано 9 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук – 3; статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus – 1; публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций – 5.

1. Тарасенко С.В. Исследование применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационного дефекта на твердом небе в эксперименте / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Н.А.

Благушина, М.Ю. Волкова // Актуальные вопросы стоматологии. Сборник тезисов межвузовской конференции. Российский университет дружбы народов. – 2019. – С. 77-80.

2. Тарасенко С.В. Экспериментальное исследование применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта кроликов / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Е.А. Морозова, Н.А. Благушина // **Российский стоматологический журнал.** – 2019. – № 23 (5). – С. 192-196.

3. Тарасенко С.В. Изучение применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте на кроликах / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Е.А. Морозова, Н.А. Благушина // Материалы II Международной научно-практической конференции «Европа – Азия. Сотрудничество без границ. Современные проблемы хирургии и смежных областей», посвященной 80-летию со дня рождения профессора Г.А. Гавриленко. – Оренбург, 2019. – С. 176-179.

4. Тарасенко С.В. Применение биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта (экспериментальное исследование) / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Н.А. Благушина // I Международная конференция молодых ученых-стоматологов: сборник тезисов. – 2020. – С. 72-73.

5. Истранова Е.В. Исследование применения отечественных биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте / Е.В. Истранова, Н.А. Благушина, С.Б. Панькуш // Сборник трудов Национального конгресса с международным участием «Паринские чтения 2020. Актуальные вопросы диагностики, лечения и диспансеризации пациентов с хирургической патологией челюстно-лицевой области и шеи». – Минск, 7-8 мая 2020 г. – С. 36-39.

6. Blagushina N. Comparative Analysis of the Use of Domestic Bioresorbable Collagen Membranes at the Closure of Postoperative Defects of the Oral Mucosa in an

Experiment In vivo / N. Blagushina, E. Diachkova, M. Volkova, S. Pankush, S. Tarasenko // *Biointerface Res Appl Chem.* – 2021. – 11 (2). – P. 9804-9812.

7. Благушина Н.А. Сравнительный анализ использования биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии раневых дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте // Сборник материалов II Всероссийской научно-практической Конференции «Современные достижения хирургической стоматологии». – Москва, 15 октября 2021 г. – С. 9-11.

8. Тарасенко С.В. Экспериментальное обоснование применения различных методов закрытия раневых дефектов слизистой оболочки рта / С.В. Тарасенко, Н.А. Благушина, А.М. Ершова, С.У. Балгаева // **Российский стоматологический журнал.** – 2021. – № 25 (3). – С. 269-277.

9. Тарасенко С.В. Гистологическая оценка использования биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии раневых дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте / С.В. Тарасенко, Н.А. Благушина // **Вятский медицинский вестник.** – 2022. – № 1 (73). – С. 67-75.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.14 – Стоматология, отрасли наук: медицинские науки, а также областям исследования согласно пунктам 2 и 3 паспорта специальности «Стоматология».

### **Объем и структура работы**

Диссертация состоит из введения, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация содержит 160 машинописных страниц, 10 таблиц, 60 рисунков. Список литературы включает 265 наименований работ, из них 86 отечественных и 179 зарубежных авторов.



## ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ОТКРЫТЫХ РАН СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1. Современные представления о течении регенеративного процесса в слизистой оболочке рта

Изучение особенностей морфологического и гистологического строения слизистой оболочки полости рта и ее регенерации после хирургических вмешательств являлось и является актуальной темой для отечественных и зарубежных исследователей. Все ткани наделены способностью к самовосстановлению, однако данный параметр может сильно отличаться в зависимости от степени перенесенной травмы (Lee K. et al., 2019). Слизистая оболочка рта и кожа способны восстанавливать свои функции даже после серьезной травмы, но процесс заживления ран не всегда приводит к бесследному заживлению и может закончиться формированием рубцовой ткани. Данное правило актуально не только для классической модели повреждения кожи, но и для тканей пародонта и слизистой рта (Рябова Д.А. и соавт., 2016; Sculean A. et al., 2014). Заживление ран в полости рта происходит быстрее, чем на коже, однако в случаях формирования значительного объема новой соединительной ткани, скорость заживления ран в полости рта может быть медленнее, чем заживление кожных ран (Гуторова А.М., 2019; Nooh N., Graves D.T., 2003; Wong J.W. et al., 2009; Keswani S.G. et al., 2013; Lee K. et al., 2019). В условиях эксцизионных травм полости рта фактором задержки регенерации может быть высокая степень воспалительной стимуляции, вызванная непрекращающимся воздействием потенциально вредных веществ и патогенных организмов на среду полости рта (Graves D.T. et al., 2001; Lee K. et al., 2019). Заживление ран в полости рта происходит в среде, насыщенной бактериями, которая подвергается постоянным травмам и контактирует со слюной (Кабалоева Д.В., 2010; Зорина О.А. и соавт.,

2014; Молчанов А.М., 2016; Атрушкевич В.Г. и соавт., 2018; Тирская О.И. и соавт., 2018; Коняева А.Д. и соавт., 2020; Ballestas S.A. et al., 2019).

Понимание биологических механизмов, лежащих в основе регенеративных процессов, является основным фактором выбора возможного метода лечения, направленного на заживление ран (Воложин А.И. и соавт., 2011; Зорина О.А. и соавт., 2014; Морозов А.М. и соавт., 2020; Lee K. et al., 2019). Процесс заживления ран после травмы связан с восстановлением целостности и функции поврежденной ткани. Считается, что процесс регенерации завершен, когда ткань структурно и функционально восстанавливается до исходного состояния в результате заживления (Якушин С.В. и соавт., 2012; Tamaki N. et al., 2016; Amaliya A. et al., 2019).

В тканях кожи и слизистой оболочки рта заживление ран представляет собой сложный многостадийный процесс, включающий в себя параллельные перекрывающиеся события, включая такие стадии как воспаление, формирование ткани и ремоделирование ткани (Кузин М.И., Костюченко Б.М., 1990; Тарасенко И.В., 2010; Воложин А.И. и соавт., 2011; Якушин С.В. и соавт., 2012; Петрова М.Б. и соавт., 2013; Рябова Д.А. и соавт., 2016; Супильников А.А. и соавт., 2016; Жмайлик Р.Р. и соавт., 2017; Аралова М.В. и соавт., 2018; Гуторова А.М., 2019; Морозов А.М. и соавт., 2020; Guo S., Dipietro L.A., 2010; Keswani S.G. et al., 2013; Tamaki N. et al., 2016; Tancharoen S. et al., 2016). Процесс заживления раны требует сложного и динамического взаимодействия эпителиальных и мезенхимальных клеток с гемопоэтическими клетками для осуществления трех стадий заживления раны (Кузин М.И., Костюченко Б.М., 1990; Алиев М.М., 2010; Винник Ю.С. и соавт., 2014; Leoni G. et al., 2015; Tancharoen S. et al., 2016).

Гемостатическая фаза приводит к герметизации раны сгустком, образованным тромбоцитами и другими клетками крови, вышедшими из кровеносного русла, а также сети, состоящей из фибрина, фибронектина и витронектина. В фазе воспаления развивается катаболический воспалительный процесс, опосредованный нейтрофилами и моноцитами, который приводит к очищению раны. Фаза формирования новой ткани начинается с образования

сильно васкуляризованной грануляционной ткани, которая заменяется временной соединительной тканью. В эту анаболическую фазу вовлечены три основных типа клеток: эндотелиальные клетки и клетки-предшественники для образования капилляров; фибробласты и миофибробласты, необходимые для образования соединительной ткани и сокращения раны; эпителиальные клетки, которые способствуют процессу реэпителизации. Фаза ремоделирования оставляет богатую коллагеном плотную матрицу с незначительным количеством клеточного компонента, которая восстанавливается в стабильную ткань на протяжении длительного времени (Кузин М.И., Костюченко Б.М., 1990; Вавилова Т.П. и соавт., 2010; Супильников А.А. и соавт., 2016; Тарасенко С.В. и соавт., 2016; Жмайлик Р.Р. и соавт., 2017; Гуторова А.М., 2019; Häkkinen L. et al., 2000; Galeano M. et al., 2004; Bader A. et al., 2011; Moslemi N. et al., 2014; Tancharoen S. et al., 2016; Yaghobee S. et al., 2018).

Реэпителизация считается важной частью процесса заживления ран. После повреждения ткани и разрушения эпителия крайне важно, чтобы эпителизация произошла как можно скорее. Базальные кератиноциты на краю раны становятся мигрирующими при воздействии с соединительнотканым матриксом и начинают мигрировать в ложе раны примерно через 24 часа. Этот феномен достигается за счет разнообразных взаимодействий между клетками и внеклеточным матриксом, а также разнообразного набора факторов роста и цитокинов (Вавилова Т.П. и соавт., 2010; Воложин А.И. и соавт., 2011; Степанов М.А., 2020; Häkkinen L. et al., 2000; Patel P.V. et al., 2012; Yaghobee S. et al., 2018).

Со стороны биохимических процессов заживление ран представляет собой период синтеза, отложения и организации нового внеклеточного матрикса, который начинается с дегрануляции тромбоцитов, сопровождающейся высвобождением различных медиаторов воспаления, таких как интерлейкин-8 (IL-8), и факторов роста: тромбоцитарного фактора роста (PDGF), трансформирующего фактора роста (TGF), которые стимулируют пролиферацию фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных клеток, необходимых для заживления ран. Во время этой начальной фазы матрикс раны содержит богатый

«коктейль» факторов роста, протеиназ, воспалительных цитокинов, которые играют важную роль в контроле молекулярных и клеточных ответов (Кузин М.И., Костюченко Б.М., 1990; Алиев М.М., 2010; Вавилова Т.П. и соавт., 2010; Тарасенко И.В., 2010; Воложин А.И. и соавт., 2011; Петрова М.Б. и соавт., 2013; Шабашова Н.В., Данилова Е.Ю., 2015; Тарасенко С.В. и соавт., 2016; Polimeni G. et al., 2006; Keskiner I. et al., 2016).

PDGF, наряду с провоспалительными цитокинами, такими как IL-8, играет важную роль в привлечении нейтрофилов к участку раны для удаления загрязняющих частиц, а TGF- $\beta$  способствует превращению моноцитов в макрофаги, которые играют важную роль в усилении воспалительной реакции и очищении раны. Макрофаги инициируют развитие грануляционной ткани и высвобождают различные провоспалительные цитокины, включая IL-8, и факторы роста. TGF- $\beta$  и PDGF впоследствии способствуют инфильтрации фибробластов, тем самым увеличивая продукцию внеклеточного матрикса и откладывая новые матриксные белки (Звигинцева М.М. и соавт., 2007; Häkkinen L. et al., 2000; Barrientos S. et al., 2008; Keskiner I. et al., 2016).

Процесс образования новой ткани сложен и во многом определяется непрерывным динамическим взаимодействием фибробластов с внеклеточным матриксом. Внеклеточный матрикс влияет на поведение и активность фибробластов, скорость секреции белков, которые принимают участие в его формировании и ремоделировании. Контакты клеток с внеклеточным матриксом опосредуются комплексом фокальной адгезии, представляющим собой сборку различных белков, участвующих в адгезии к внеклеточному матриксу и последующей активации различных внутриклеточных сигнальных путей киназы фокальной адгезии (ФАК), нерецепторной протеинтирозинкиназы (Fischer N.G. et al., 2017; Guo B. et al., 2020). ФАК индуцирует экспрессию альфа-актина гладких мышц ( $\alpha$ -SMA), который играет важную роль в механотрансдукции и ремоделировании тканей, коллагена I типа (Cheung J.W. et al., 2014; Guo F. et al., 2014; Guo B. et al., 2020).

TGF- $\beta$  и PDGF продуцируются тромбоцитами, макрофагами, фибробластами и кератиноцитами (Bartold P.M., Narayanan A.S., 2006). TGF- $\beta$ 1, одна из изоформ этого фактора роста, играет важную роль в воспалении, ангиогенезе, реэпителизации и регенерации соединительной ткани, которые являются частью процесса заживления ран. Взаимная стимуляция TGF- $\beta$ 1 и кератиноцитов важна для быстрой реэпителизации и успешного заживления ран (Звигинцева М.М. и соавт., 2007; Barrientos S. et al., 2008; Keskiner I. et al., 2016; Guo B. et al., 2020). PDGF-BB, одна из гомодимерных форм тромбоцитарного фактора, способствует высвобождению PDGF из дегранулированных тромбоцитов в раневую жидкость для стимуляции митогенности и хемотаксиса нейтрофилов, макрофагов, фибробластов и гладкомышечных клеток, что является необходимым для пролиферации фибробластов и миофибробластов в процессе заживления раны (Javed F. et al., 2011; Fujita T. et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016). TGF-1 $\beta$  также способствует экспрессии генов  $\alpha$ -SMA, являющегося основным медиатором сокращения раны (Tamaki N. et al., 2016; Guo B. et al., 2020).

Начало формирования нового внеклеточного матрикса в грануляционной ткани, расположенной ниже новообразованного эпителия, происходит примерно через 7 дней после воздействия на этот участок слизистой оболочки (Häkkinen L. et al., 2000; Keskiner I. et al., 2016). На ранних этапах заживления TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB инициируют фенотипические изменения в клетках внутри нового внеклеточного матрикса, превращая фибробласты в миофибробласты, которые выстраиваются вдоль границ раны для создания сжимающей силы, тем самым облегчая закрытие раны. Позднее грануляционная ткань удаляется и заменяется каркасом, образованным из волокон коллагена и эластина. TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB активируют сигналы, инициированные напряжением в трехмерном каркасе коллагенового матрикса и координируемые посредством специфических воздействий коллаген-интегрин. Когда ранняя фаза заживления завершена, наступает процесс ремоделирования и созревания ткани, включая TGF- $\beta$ -опосредованный синтез коллагена и расщепление старых коллагеновых волокон с помощью PDGF (Meckmongkol T.T. et al., 2007; Keskiner I. et al., 2016).

Такие разнообразные процессы как заживление раны, воспаление и фиброз регулируются одними и теми же молекулами и клеточными взаимодействиями. В то время как TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB являются фиброгенными и противовоспалительными медиаторами, IL-8 принадлежит к  $\alpha$ -подсемейству хемокинов, связанных с провоспалительными и ангиогенными свойствами. Более того, присутствие рецепторов IL-8 на резидентных клетках предполагает, что этот интерлейкин участвует в регуляции реэпителизации, ремоделирования тканей, воспаления и ангиогенеза (Bartold P.M., Narayanan A.S., 2006; Javed F. et al., 2011; Fujita T. et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016). IL-8 высоко экспрессируется на открытой раневой поверхности именно в тех зонах, в которые мигрируют кератиноциты, чтобы закрыть эпидермальный дефект (Gillitzer R., Goebeler M., 2001). Хотя IL-8 может иметь положительное влияние на процессы заживления, однако его чрезмерное количество снижает миграцию фибробластов и способствует возникновению морфологических изменений в этих клетках, которые ухудшают и нарушают фокальную адгезию, следовательно микрофиламенты этих клеток организуют компактные коллагеновые волокна в более толстые пучки (Iosono J.A. et al., 2000; Gillitzer R., Goebeler M., 2001; Keskiner I. et al., 2016).

В экспериментальных исследованиях проводился анализ заживления ран у животных с дефицитом различных медиаторов воспаления: было определено, что заживление кожных ран ускоряется у мышей с дефицитом рецептора фактора некроза опухоли (TNF), интерферона- $\gamma$ , интерлейкина-10 (IL-10), а замедляется при дефиците интерлейкина (IL-6) (Werner S., Grose R., 2003; Ishida Y. et al., 2004; Eming S.A. et al., 2007; Tancharoen S. et al., 2016).

HMGB1 (high-mobility group box 1) представляет собой представляет собой распространенный ядерный ДНК-связывающий белок, весом 25 кДа, который расположен в ядре клетки и организует базовую структурную единицу хроматина, репликации ДНК и транскрипции (Bianchi M.E., Agresti A., 2005; Tancharoen S. et al., 2016). После воздействия на клетки различных воспалительных стимулов, этот белок способен перемещаться из ядра: во внеклеточной среде он действует как первичный провоспалительный цитокин: участвует в патогенезе различных

воспалительных заболеваний, включая заболевания пародонта (Morimoto Y. et al., 2008; Kikuchi K. et al., 2011). Согласно проведенным исследованиям, HMGB1 является мощным хемоаттрактантом и митогеном для стволовых клеток, связанных с кровеносными сосудами, а также для фибробластов кожи и кератиноцитов (Palumbo R. et al., 2004; Ranzato E. et al., 2009; Tancharoen S. et al., 2016).

При стимуляции липополисахаридами бактериальной клетки *Prevotella intermedia* одонтобластоподобные клетки реагируют повышенной экспрессией рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE) и продуцируют HMGB1. RAGE является членом суперсемейства иммуноглобулинов и экспрессируется на эпителиальных и фибробластных клетках десны, мононуклеарных фагоцитах, гладкомышечных клетках сосудов и нейронах (Schmidt A.M., Stern D.M., 2001; Ito Y. et al., 2012; Tancharoen S. et al., 2016). Данный рецептор взаимодействует с рядом лигандов, включая конечные продукты гликирования, HMGB1 и S100/калгранулины. Связывание лиганда приводит к RAGE-зависимой устойчивой активации ядерного фактора-каппа В (NF-κB), а также к ускорению заживления ран. Данные исследования показывают, что HMGB1 является многофункциональным цитокином, участвующим в воспалительных реакциях и восстановлении тканей (Bierhaus A. et al., 2005; Ranzato E. et al., 2010; Tancharoen S. et al., 2016).

Tancharoen S. et al. (2016) провели экспериментальное исследование, в котором впервые проводили оценку регулирующей роли цитокина HMGB1 и его потенциально вовлеченных сигнальных путей на процесс заживления слизистой оболочки на твердом небе. Были использованы гетерозиготные мыши *Hmgb1*<sup>+/-</sup> и мыши дикого типа. При проведении макроскопического исследования на третьи и седьмые сутки после забора десневого трансплантата было отмечено, что скорейшая эпителизация раневой поверхности происходила у мышей дикого типа. Эти данные авторы подтвердили и гистологическим исследованием биоптатов, окрашенных по методу Маллори: у мышей дикого типа на третьи сутки в области заживающей раны определяли хорошо организованные, параллельно расположенные, плотно упакованные толстые пучки коллагеновых волокон, тогда

как у гетерозиготных мышей коллагеновые волокна были тонкие, расположенные в виде сети. При окрашивании биоптатов гематоксилином и эозином на третьи сутки у гетерозиготных мышей авторы отметили процесс субэпителиального заживления, а также инфильтрацию соединительной ткани мононуклеарными клетками. Более выраженная мононуклеарная инфильтрация тканей была у мышей дикого типа. Данные результаты демонстрируют значительные задержки в процессе заживления ран у мышей *Hmgb1+/-*, такие как эпителизация и формирование коллагена.

Экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), демонстрирующего процессы неоангиогенеза в области раны, авторы исследования также оценивали на третьи и седьмые сутки после получения трансплантата с неба: была получена статистически достоверная разница ( $p < 0,001$ ) между показателями данного белка в двух исследуемых группах. Полученные результаты гистологического и иммуногистохимического исследований позволили сделать вывод о непосредственном влиянии ядерного белка HMGB1 на процесс заживления слизистой оболочки, в частности в области твердого неба (Tancharoen S. et al., 2016).

Процесс заживления ран включает в себя сложные клеточные и молекулярные взаимодействия, на которые оказывает влияние не только физическое здоровье, но и психологическое состояние (Журавлев А.Н., 2019; Koschwanez H.E., Broadbent E., 2011; Yang L. et al., 2013). Одиночество, социальная изоляция и стрессы являются общепризнанными факторами риска развития многих заболеваний (Grippe A.J. et al., 2011; Yang L. et al., 2013). В исследовании Walburn J. et al. (2009) было показано, что стресс ухудшает течение процессов заживления ран. Также в работе Bosch J.A. et al. (2007) было показано, что психологический стресс, депрессивные состояния оказывают влияние на скорость заживления слизистой оболочки полости рта.

Журавлев А.Н. (2019) в рамках диссертационного исследования оценивал влияние стрессовой реакции организма на заживление ран в полости рта. Для проведения хирургических вмешательств использовали режущие инструменты



(скальпель) и лазерное излучение в сравнительном аспекте. Уровень аденкортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола определяли до оперативного вмешательства, сразу после завершения операции и через 5 суток. Согласно полученным автором данным биохимического исследования, изменение уровня гормонов в крови напрямую зависит от использованного инструмента: при использовании лазерных технологий сразу после оперативного вмешательства уровень кортизола уменьшался в 1,7 раза по сравнению со значением до начала лечения, а к 5 суткам восстанавливался до нормальных значений. У пациентов, оперированных традиционным способом, уровень стрессового гормона после операции снижался в 2,2 раза, выходя за нижнюю границу нормы, а к 5 суткам увеличивался по сравнению с первоначальным значением в 1,2 раза. По мнению автора исследования, данный параметр стрессового воздействия на организм находит отражение и в скорости регенеративного процесса: при использовании стоматологических лазеров отмечали более раннее заживление и эпителизацию.

МикроРНК (miRNAs) представляют собой эндогенные короткие некодирующие РНК, которые играют важную роль в регуляции нормального развития и физиологии, а также патологических процессов. В исследовании Banerjee J.A. et al. (2011) было показано, что микроРНК играют ключевую роль в заживлении кожных ран, а aberrantная экспрессия микроРНК может приводить к дезорганизованному или плохому заживлению. Было идентифицировано, что такие микроРНК как miR-16, miR-21, miR-130a, miR-200b являются важными в моделях заживления кожных ран (Pastar I. et al., 2012; Chan Y.C. et al., 2012). Однако лежащие в основе механизмы, с помощью которых микроРНК принимают участие в процессе заживления, остаются плохо изученными, особенно в том, что касается их функции в процессах восстановления слизистой оболочки (Yang L. et al., 2013). miR-29 представляет собой типичную многофункциональную микроРНК, которая участвует в регуляции эпителиально-мезенхимального перехода, клеточной дифференцировки, ремоделирования внеклеточного матрикса и ангиогенеза (Kriegel A.J. et al., 2012; Kogure T. et al., 2012). miR-203 – первая идентифицированная микроРНК, специфичная для кожи и кератиноцитов. Эта

микроРНК активируется при воспалительных и иммуноопосредованных заболеваниях (Primo M.N. et al., 2012; Viticcì G. et al., 2012). Обе эти микроРНК являются важными регуляторами функций раневоспецифичных клеток и цитокиновой сети (Yang L. et al., 2013).

Yang L. et al. (2013) в эксперименте оценивали скорость заживления раны на небе у крыс, которые либо находились в группе (без стресса), либо были социально изолированы в течение 4 недель (стресс). У животных наблюдали за скоростью закрытия дефекта слизистой оболочки (диаметр раны 3,5 см) и определяли экспрессию гена в ткани после повреждения для провоспалительных цитокинов (интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, TNF- $\alpha$ ), хемокинов (макрофагальный воспалительный белок-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), хемотаксический протеин-1 моноцитов (MCP-1)), факторов роста (фактор роста фибробластов (FGF), фактор роста эндотелия сосудов A (VEGFA)) и  $\alpha$ -SMA. Все эти вещества важны для заживления раны и высоко экспрессируются на ранних этапах заживления.

Общая скорость закрытия ран была значительно ниже у изолированных крыс, чем в группе сравнения ( $p < 0,01$ ): в группе исследования потребовалось на 31,2% больше времени для полного заживления (6,4 дня против 8,4 дня до полной эпителизации). При помощи количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени было обнаружено, что изолированные крысы демонстрировали пониженное раннее увеличение экспрессии генов провоспалительных цитокинов и хемокинов, и, следовательно, задержку пика экспрессии. Также у изолированных животных были определены понижение уровня VEGFA и замедленное увеличение экспрессии FGF. Измерение уровней мРНК IL-6, MCP-1,  $\alpha$ -SMA в слизистой оболочке не выявило различий между группами исследования и сравнения.

По сравнению с группой сравнения, у животных, содержащихся в изоляции, отмечали высокие уровни экспрессии miR-29, уровень экспрессии miR-203 был заметно выше на 3 и 5 день после создания раневой поверхности. Авторами была выявлена отрицательная корреляция между уровнями miR-29, miR-203 и VEGFA: эти микроРНК подавляют экспрессию эндогенного VEGFA. Такое подавление было очевидным в группе изолированных животных, что наблюдали с 1 по 5 день

после травмы слизистой оболочки. Авторы предполагают, что ингибирование микроРНК может стать «мишенью» для создания терапевтических средств, направленных на ускорение процессов восстановления тканей слизистой оболочки (Yang L. et al., 2013).

## **1.2. Способы стимуляции регенеративного процесса в слизистой оболочке рта**

В литературе встречаются различные способы воздействия на донорскую зону для ускорения процессов заживления раны и снижения послеоперационного болевого синдрома: использование низковольтного лазера, экстрактов лекарственных растений, местное применение озонированного масла, применение богатой тромбоцитами плазмы и богатого тромбоцитами фибрина (Patel P.V. et al., 2012; Shayesteh Y.S. et al., 2012; Kulkarni M.R. et al., 2014; Moslemi N. et al., 2014; Yaghobee S. et al., 2018; Amaliya A. et al., 2019; Kadkhoda Z. et al., 2020). Chang P.C. et al. (2014) после проведения экспериментального исследования для облегчения заживления ран в области твердого неба было предложено использовать агенты, предотвращающие прогрессирование конечного продукта гликирования.

Эпидермальный фактор роста (EGF) присутствует в клетках всех тканей организма, регулирует их рост и играет важную роль в регуляции обменных и восстановительных процессов. EGF связывается с рецепторами клеточных мембран, что стимулирует таксис провоспалительных клеток и дифференциацию восстанавливающихся, что способствует скорейшему заживлению ран. EGF влияет на рост эпителиальных клеток, эндотелиоцитов, фибробластов, повышает пролиферативные процессы. EGF относится к одноименному семейству факторов, в которое также входят TGF- $\alpha$ , амфирегулин, бетацеллюлин, эпирегулин. Кератиноциты не синтезируют EGF самостоятельно, а получают его из фибробластов дермы. Сами же кератиноциты продуцируют TGF- $\alpha$ , амфирегулин (Воложин А.И. и соавт., 2011). При повреждениях в полости рта количество рецепторов к EGF возрастает, что вызывает перемещение клеток из здоровых

неповрежденных тканей в пораженные участки (Васильев А.В. и соавт., 1994; Звигинцева М.М. и соавт., 2007; Кабалоева Д.В., 2010; Воложин А.И. и соавт., 2011; Шабашова Н.В., Данилова Е.Ю., 2015).

Воложин А.И. и соавт. (2011) в рамках экспериментального исследования оценивали эффективность применения рекомбинантного EGF для оптимизации заживления повреждений слизистой оболочки. Экспериментальным животным (крысам линии Вистар) на твердом небе наносили круглую рану диаметром 5 мм. Все животные были разделены на три группы: в 1 группе животные получали чистую питьевую воду, во 2 группе – воду с EGF в концентрации 100 мкг/мл, в 3 группе – концентрация EGF в воде составляла 500 мкг/мл. Гистологическую оценку процессов заживления раны проводили на 3, 7, 14 и 21 сутки. Наиболее интенсивно регенеративные процессы протекали у животных третьей группы.

Считается, что усиление процесса ангиогенеза является эффективным способом ускорения заживления ран в полости рта (Umeki H. et al., 2014; Zhu T. et al., 2015). Ангиогенез может стимулироваться различными факторами роста, такими как FGF, VEGF, PDGF, TGF- $\beta$ , а также некоторыми пептидами (Винник Ю.С. и соавт., 2014; Ferrari G. et al., 2009; Lopatina T. et al., 2014; Zhu T. et al., 2015). Диметилноксалилглицин представляет собой пептид с малой молекулярной массой, является проницаемым для клеток неспецифическим ингибитором пролилгидроксилаз. Этот фермент участвует в сигнальных путях фактора, индуцируемого гипоксией (HIF). В условиях достаточного количества кислорода пролилгидроксилаза способствует деградации фактора HIF. Следовательно, ингибирование этого фермента может способствовать созданию среды, аналогичной при гипоксии в клетках, а также будет способствовать активизации генов, связанных с ангиогенезом, в частности усиления синтеза VEGF (Agis H. et al., 2012; Zhu T. et al., 2015).

Zhu T. et al. (2015) оценивали влияние диметилноксалилглицина на заживление ран в эксперименте на крысах. На культуре фибробластоподобных клеток крыс диметилноксалилглицин способствовал повышению экспрессии VEGF, а также индуцировал стабилизацию фактора HIF. В исследовании *in vivo* животным

создавали рану на небе при помощи мукотома диаметром 3 мм, после чего наносили гель с гиалуроновой кислотой (20 мг/мл) и различными концентрациями диметилноксалилглицина. Повторное нанесение препарата проводили на 2 и 4 сутки после эксперимента. Значительное ускорение заживления раны к 7 суткам эксперимента отмечали при использовании геля с концентрацией 1 мг/мл диметилноксалилглицина.

Согласно некоторым экспериментальным исследованиям, важную роль в ускорении заживления ран играет эритропоэтин (Buemi M. et al., 2004; Galeano M. et al., 2004). Эритропоэтин представляет собой гликопротеиновый гормон, который принадлежит к суперсемейству гемопоэтических цитокинов I класса. Он отвечает за контроль массы красных кровяных телец, провоцируя пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников и препятствуя апоптозу эритроидных клеток в костном мозге (Vodó E. et al., 2007; Yaghobee S. et al., 2018). Рецептор эритропоэтина экспрессируется на эндотелиальные клетки, кардиомиоциты, циркулирующие эндотелиальные клетки-предшественники, нейроны, астроциты (Galeano M. et al., 2004; Sayan H. et al., 2006). Более того еще одной «мишенью» для эритропоэтина является кожа, а рецептор для этого гормона экспрессируется на эндотелиальных клетках, макрофагах, фибробластах, тучных клетках, меланоцитах и волосяных фолликулах, что позволило сделать предположение об ускорении процесса заживления кожных ран за счет стимуляции ангиогенеза, образования внеклеточного матрикса и коллагена, ограничения количества медиаторов воспаления и апоптоза в процессе заживления ран (Isogai R. et al., 2006; Vodó E. et al., 2007; Yaghobee S. et al., 2018). В ряде экспериментальных и клинических исследований было показано, что системное введение эритропоэтина улучшает заживление кожных ран (Buemi M. et al., 2004; Galeano M. et al., 2004; Bader A. et al., 2011; Named S. et al., 2011). Экспрессию рецепторов эритропоэтина наблюдали в базальном слое клеток слизистой оболочки полости рта (Mohyeldin A. et al., 2005; Vodó E. et al., 2007; Yaghobee S. et al., 2018).

Yaghobee S. et al. (2018) проводили клиническое исследование, в котором оценивали влияние эритропоэтина на скорость эпителизации твердого неба после

процедуры забора СДТ. В исследование были включены 12 пациентов со здоровыми тканями пародонта и отсутствием достаточного количества прикрепленной десны на нижней челюсти. Свободный трансплантат размером 10\*15 мм, толщиной 1,5 мм получали из области премоляров и первого моляра на твердом небе. После достижения гемостаза на донорском участке в группе исследования наносили 1 мл геля, содержащего 4000 МЕ/мл эритропоэтина (получали путем смешивания 4000 МЕ эритропоэтина с 1 мл 3% гидроксиэтилцеллюлозы), а в группе сравнения участок обрабатывали 2 мл геля, не содержащего эритропоэтин (1,5% гель гидроксиэтилцеллюлозы). Затем участки раны покрывали фольгой и наносили пародонтальную повязку Сое-Рак. Повторную обработку донорской области проводили через 2 дня после оперативного вмешательства. Оценку скорости эпителизации раны проводили на 7, 14, 21 и 28 сутки после операции: к концу второй недели полная эпителизация донорского участка наступила у одного пациента в группе исследования и в группе сравнения; в конце третьей недели полная эпителизация наблюдалась у 10 пациентов в исследуемой группе и у 6 пациентов в контрольной группе со статистически значимой разницей  $p < 0,05$  в пользу тестовой группы. К 30 суткам после операции практически у всех пациентов наблюдалась полная эпителизация. Проведенная клиническая оценка позволила авторам исследования прийти к выводу, что местное применение эритропоэтина способствует улучшению процесса заживления донорской области на твердом небе на третьей и четвертой неделе после забора СДТ (Yaghobee S. et al., 2018).

Попытки лучше понять течение воспалительного процесса после хирургического вмешательства вызвали интерес к разработке новых аутотерапевтических методов, основанных на естественной способности организма к самовосстановлению и защите. Роль прорегенеративных воспалительных сигналов в заживлении ран слизистой оболочки рта менее изучена по сравнению с заживлением кожных ран. Неотъемлемой частью течения посттравматического воспалительного процесса является инфильтрация мононуклеарных клеток, включая моноциты и макрофаги (Воложин А.И. и соавт.,

2011; Супильников А.А. и соавт., 2016; Шаповалова Е.Ю. и соавт., 2019; Mosser D.M., Edwards J.P., 2008; Ballestas S.A. et al., 2019). Было определено, что в крови присутствуют две различные популяции моноцитов: в экспериментальных исследованиях на мышах «классические» моноциты  $Ly6C^{hi}CX3CR1^{lo}$  были идентифицированы как класс провоспалительных моноцитов, тогда как неклассические, «противовоспалительные» моноциты  $Ly6C^{lo}CX3CR1^{hi}$  патрулируют покоящийся эндотелий и проявляют прорегенеративные функции после травмы (Avraham-Davidi I. et al., 2013). Макрофаги, происходящие из моноцитов, также реагируют на сигналы в микросреде повреждения, которые определяют их роль в реакциях заживления ран и состоянии поляризации, начиная от провоспалительных макрофагов M1 до альтернативно активируемых прорегенеративных макрофагов M2a/c (Суворова И.А. и соавт., 2015; Krieger J.R. et al., 2016; Ogle M.E. et al., 2016).

В литературе встречаются публикации, посвященные разработке «иммунорегенеративных» материалов, в которых программы восстановления эндогенной ткани разблокируются небольшими молекулами, которые реинжинируют временной профиль рекрутирования, пространственное распределение и передачу сигналов ниши субнаборов моноцитов/макрофагов (Ogle M.E. et al., 2016). В работе Olingy C.E. et al. (2017) продемонстрирована эффективность FTY720, аналога сфингозина, способного привлекать прорегенеративные моноциты M2 к кожной ране. Для адаптации данной технологии для применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Ballestas S.A. et al. (2019) исследовали привлечение субпопуляций мононуклеарных фагоцитов после повреждения слизистой оболочки полости рта. В экспериментальной модели на мышах была симитирована модель повреждения слизистой оболочки твердого неба (толщина повреждения 1,5 мм) и образование ороназального свища. Созданные дефекты твердого неба закрывали биodeградируемой каркасом из нановолокон (в состав входили поликапролактон и полимолочно-гликолевой кислота). Часть пластин была пропитана

иммуномодулятором FTY720, аналогом сфингозина, который усиливает миграцию прорегенеративных моноцитов и макрофагов.

Авторы исследования сравнивали накопление прорегенеративной популяции неклассических моноцитов Ly6C<sup>lo</sup> и макрофагов M2 относительно неповрежденной слизистой оболочки твердого неба. Существенных изменений в популяциях классических моноцитов Ly6C<sup>lo</sup> или Ly6C<sup>hi</sup> не было обнаружено. Хотя общее количество макрофагов M2 в общей популяции макрофагов не увеличивалось, процент макрофагов M2 на 5-й день в исследуемых группах увеличивался по сравнению с контрольной группой (без повреждения твердого неба). Также было отмечено значительное улучшение заживления ран при использовании нановолоконных каркасов с FTY720: гистологическое исследование поврежденного участка на 3 сутки показало сохранение ороназального свища в группе с пустым каркасом, тогда как в другой группе наблюдались процессы реэпителизации. На 5 сутки при использовании FTY720 определяли повышенную пролиферацию кератиноцитов. Использование иммуномодулирующего препарата способствовало привлечению противовоспалительных моноцитов Ly6C<sup>lo</sup>, увеличению общего количества прорегенеративных макрофагов M2 и процентного содержания макрофагов M2 ко всем макрофагам на третьи сутки после проведенного вмешательства.

Влияние FTY720 на течение воспалительного ответа оценивали при проведении количественной ПЦР на слизистой оболочке, окружающей зону раневой поверхности. В присутствии данного препарата снижалось общее количество провоспалительных цитокинов IL-1, IL-4, IL-6, увеличивалось значение противовоспалительного цитокина IL-10. Авторы данного исследования сообщают о положительном влиянии иммуномодулятора FTY720 на течение раневого процесса на слизистой оболочке и улучшение заживления ран полости рта (Ballestas S.A. et al., 2019).

В дерматологии широкое распространение получила химическая регенерация кожных рубцов: при этом методе частичное удаление эпидермиса химическими агентами стимулирует рост новой кожи вместо рубцовой или старой



кожи. Одним из таких препаратов для химического пилинга является трихлоруксусная кислота (ТСА) (Lee K. et al., 2019). Данный химический агент в исследованиях *in vivo* и *in vitro* показал такие эффекты как стимулирование образования коллагена, усиление ангиогенеза, активация факторов роста. Напротив, применение ТСА для ускорения заживления ран в полости рта достаточно ограничено в связи с его высокой кислотностью и возможностью повреждения структур полости рта (Cho S.B. et al., 2006; Kimura A. et al., 2012; Lee K. et al., 2019). Тем не менее, в литературе встречаются публикации о положительном эффекте применения ТСА в качестве препарата для лечения поражений полости рта (Mahmoudi H. et al., 2019).

Lee K. et al. (2019) в рамках экспериментального исследования изучали воздействие препаратов ТСА с различной его концентрацией (0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5% и 1%) на слизистую оболочку полости рта и процесс ранозаживления. При определении цитотоксичности препаратов ТСА на культуре человеческих фибробластов было установлено, что применение препаратов с концентрацией ниже 0,05% вызывали ограниченную гибель клеток даже после периода воздействия более 21 часа. Для оценки способности воздействия препаратов ТСА на активацию заживления слизистой оболочки, проводили ПЦР-скрининг экспрессии ключевых генов, связанных с заживлением ран: EGF, рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), FGF-1, FGF-2, фактора роста кератиноцитов (KGF), PDGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, VEGF. Усиление активности экспрессии генов данных факторов роста было определено при использовании 0,5% ТСА после 9 часов экспозиции. Более низкие концентрации препарата не оказывали значительного воздействия на усиление активности факторов роста. Авторы исследования пришли к выводу, что 0,5% ТСА может способствовать ранней фазе заживления слизистой оболочки полости рта, а данная концентрация препарата была выбрана в качестве основной экспериментальной группы для дальнейшего исследования.

Доклиническая оценка биологического потенциала препаратов ТСА была проведена на экспериментальных животных (собаки породы бигль): при помощи

мукотомом диаметром 6 мм была создана цилиндрическая рана на твердом небе после взятия полнослойного лоскута. Через 1 день после создания дефекта на рану наносили препарат. Клиническую оценку заживления и площади раневой поверхности проводили в день операции, на следующий день, на 3, 11 и 17 сутки. Сразу после нанесения ТСА наблюдалась реакция «обледенения» тканей раны от белого до сероватого цвета: гистологически данный процесс выражается в коагуляции белков и клеток, которые составляют ткани, подвергшиеся воздействию кислого раствора, а интенсивность «обледенения» напрямую коррелирует с глубиной проникновения раствора. Выраженное побеление тканей отмечали при концентрациях 1% и 0,5%, в то время как раны, обработанные 0,05% и 0,005% демонстрировали ослабленную реакцию. Наибольшая скорость реэпителизации раны была отмечена в группе применения 0,5% раствора по сравнению с контрольной группой на 11 сутки эксперимента, а к 17 суткам эти раны были полностью эпителизированы. Авторы исследования пришли к выводам, что препарат 0,5% ТСА индуцирует экспрессию факторов роста и изменения экспрессии генов в фибробластах, включая пути развития клеточного цикла, а в сравнении со спонтанным заживлением раневых дефектов мягких тканей полости рта продемонстрировал более быструю регенерацию (Lee K. et al., 2019).

На протяжении более чем 3 десятилетий в медицине широко применяются лазерные технологии (Вавилова Т.П. и соавт., 2010; Топольницкий О.З. и соавт., 2011; Тарасенко С.В. и соавт., 2016; Морозова Е.А. и соавт., 2018; Гуторова А.М., 2019; Базилян Э.А. и соавт., 2020; Keskiner I. et al., 2016). За это время в различных научных исследованиях был продемонстрирован биостимулирующий эффект фотобиомодуляции. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* было показано, что фотобиомодуляция может способствовать заживлению ран путем стимуляции активности фибробластов и кератиноцитов, увеличения синтеза коллагена, усиления ангиогенеза и высвобождения факторов роста (Великанов А.Н. и соавт., 2015; Saygun I. et al., 2012; Firat E.T. et al., 2013; Basso F.G. et al., 2015; Lee J.Y. et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016; Lafzi A. et al., 2019). Данный метод был предложен в качестве средства для стимуляции клеток в матриксе раны и для ускорения

заживления слизистой оболочки в донорском участке на твердом небе (Firat E.T. et al., 2014; Dias S.B et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016). Dias S.B. et al. (2015) на основании измерения площади раневой поверхности и толщины тканей установили, что низковольтное лазерное излучение ускоряет заживление донорской зоны на твердом небе.

Keskiner I. et al. (2016) проводили клиническое исследование, в рамках которого оценивали влияние фотобиомодуляции неодимовым лазером Nd: YAG на заживление раны после процедуры получения СДТ толщиной около 1,5 мм из области твердого неба. В исследование были включены 30 пациентов, разделенные случайным образом на две группы: в одной группе после получения СДТ на донорскую зону проводили обработку неодимовым лазером Nd: YAG, в другой группе имитировали воздействие лазерного излучения. Всем пациентам для защиты донорской зоны также были изготовлены защитные каппы. В группе лазеров был использован неодимовый лазер Nd: YAG (Fotona Fidelis III, Словения) с непрерывной длиной волны 1064 нм. Лазерную терапию проводили сразу после завершения оперативного вмешательства, повторное воздействие проводили еще 4 раза с интервалом 24 часа. Мощность излучения составила 250 мВт в течение 10 секунд, приложенная плотность энергии (флюенс) составляла 1,6 Дж/см<sup>2</sup>. Наконечник лазера располагали перпендикулярно на расстоянии 1 см от донорского участка.

На 7 и 12 сутки после оперативного вмешательства в области донорской зоны проводили забор раневой жидкости, в которой определяли концентрацию и общее количество цитокинов TGF-β1, PDGF-BB, IL-8. Так на 7 сутки в лазерной группе концентрация и общее количество исследуемых цитокинов были значительно выше, чем в группе с имитацией лазерного излучения ( $p < 0,05$ ). К 12 суткам внутри исследуемых групп отмечали снижение значений цитокинов, однако при сравнении между группами концентрация и общее количество трансформирующего фактора TGF-β1 было выше в группе, получавшей воздействие лазера, а показатели PDGF-BB, IL-8 были одинаковыми для обеих групп. Авторы исследования считают, что фотобиомодуляция лазерным

излучением может играть важную роль в реэпителизации ран слизистой оболочки рта, увеличивая выработку факторов роста, необходимых на ранней стадии построения матрикса для обеспечения правильного процесса ранозаживления (Keskiner I. et al., 2016).

Похожие результаты с использованием гелий-неонового лазера He-Ne были получены Safavi S.M. et al. (2008): лазерное излучение оказывало биостимулирующее действие на заживление разрезов, созданных на десне у экспериментальных животных, и приводило к значительной экспрессии TGF- $\beta$  и PDGF в биоптатах десны. Usumez A. et al. (2014) сравнивали влияние лазерного излучения с четырьмя разными длинами волн на заживление ран слизистой оболочки на животной модели путем оценки экспрессии факторов роста. Наибольшее воздействие на экспрессию PDGF оказал также неодимовый лазер Nd:YAG с длиной волны 1064 нм, однако влияния на экспрессию TGF- $\beta$  данный лазер не оказал.

Lafzi A. et al. (2019) оценивали влияние низкоинтенсивного лазерного излучения диодного лазера на скорость заживления ран на твердом небе после забора СДТ. В исследовании был использован диодный лазер с длиной волны 808 нм (Wiser; Doctor Smile – Vicenza, Италия). Лазерное излучение (непрерывная мощность 50 мВт, доза энергии 15 Дж/см<sup>2</sup>, время воздействия 30 секунд), в группе исследования применяли сразу после операции и повторяли три раза через каждые 48 часов. В контрольной группе на донорской зоне проводили имитацию излучения. При анализе результатов исследования авторы отметили скорейшее заживление донорского участка в группе исследования по сравнению с контрольной группой, а также менее выраженный послеоперационный болевой синдром в течение первых 24 часов после операции.

### **1.3. Способы закрытия донорской зоны при проведении оперативных вмешательств на слизистой оболочке рта**

Предложено значительное число способов закрытия и препаратов для донорской зоны в области твердого неба при получении СДТ: различные виды антисептиков, антибактериальных препаратов, кровоостанавливающих средств, пародонтальных повязок, защитных пластинок и биоактивных материалов (Yen C.A. et al., 2007; Shanmugam M. et al., 2010; Hammad H.M. et al., 2011; Kim S.H. et al., 2012; Amaliya A. et al., 2019; Belkhede S.G. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019). Основной целью использования этих средств является повышение скорости заживления раны на небе и, следовательно, снижение послеоперационного дискомфорта, вероятности присоединения вторичной инфекции, формирования рубцовой ткани и развития других послеоперационных осложнений (Рябова Д.А. и соавт., 2016; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Zhu T. et al., 2015; Sezgin Y. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020). Высокая саливация в полости рта обуславливает выбор препаратов для местного воздействия на раневую поверхность в пользу препаратов с высокой адгезией, что будет способствовать длительному контакту лекарственного средства со слизистой оболочкой (Токмакова С.И. и соавт., 2014; Тирская О.И. и соавт., 2018).

Основной функцией всех биоматериалов в регенеративной медицине является поддержка регенерации мягких и твердых тканей посредством тканевых реакций, вызванных материалом. При поиске «идеального» биоматериала необходимо учитывать такие аспекты, как тканевую совместимость, физико-химическую стабильность, скорость васкуляризации и деградации, а также специфический для биоматериала иммунный ответ (Морозов А.М. и соавт., 2020; Bunyaratavej P., Wang H.L., 2001; Al-Maawi S. et al., 2019; Guo B. et al., 2020). На клеточном уровне современные материалы должны стимулировать миграцию резидентных клеток-предшественников в область заживления, их пролиферацию и дифференцировку в зрелый тканеспецифический фенотип, а также способствовать

созданию внеклеточного матрикса (Boehler R.M. et al., 2011; Cao J. et al., 2018; Skoog S.A. et al., 2018; Guo B. et al., 2020).

Одним способов закрытия раневой поверхности является применение амниотической мембраны, которая в последнее время все чаще применяется в стоматологической хирургической практике (Fénelon M. et al., 2018; Martelloni M. et al., 2019; Kadkhoda Z. et al., 2020; Toledano M. et al., 2020). Амниотическая мембрана человека представляет собой внутренний бессосудистый слой плаценты, состоящий из 5 отдельных слоев: 1) эпителиального, который состоит из единственного слоя клеток и контактирует с амниотической жидкостью, 2) базальной мембраны, состоящей из ретикулярных волокон, 3) компактного слоя, 4) слоя фибробластов, 5) губчатого слоя, который достаточно студенистый по своей консистенции и позволяет разделить амниотическую и хорионическую оболочки (Martelloni M. et al., 2019). Амниотическая мембрана обладает противовоспалительными и антимикробными свойствами, а также низкой иммуногенностью, способствует эпителизации и снижает болевой синдром и образование рубцовой ткани (Гаин Ю.М. и соавт., 2012; Mermet I. et al., 2007; Amemiya T. et al., 2015; Kadkhoda Z. et al., 2020; Toledano M. et al., 2020). В составе амниотической мембраны было идентифицировано несколько цитокинов и факторов роста, таких как IL-10, трансформирующие факторы роста (TGF- $\alpha$ , - $\beta$ 1, - $\beta$ 2), EGF, KGF, основной фактор роста фибробластов (bFGF), а наличие в составе мембраны коллагена создает важный субстрат для прорастания клеток и заживления ран (Fetterolf D.E., Snyder R.J., 2012; Martelloni M. et al., 2019; Toledano M. et al., 2020).

Martelloni M. et al. (2019) опубликовали клинический случай использования амниотической мембраны для закрытия донорской зоны после получения СДТ: мембрану фиксировали узловыми швами к раневой поверхности. Авторы статьи отметили, что через неделю после проведенного вмешательства произошло полное закрытие раневой поверхности и отсутствовала кровоточивость, а через 30 дней наступила полная реэпителизация твердого неба. Послеоперационный период протекал без осложнений, и пациент не принимал никаких обезболивающих

препаратов. Схожие результаты клинического применения амниотической мембраны для закрытия раны на небе получили и Kadkhoda Z. et al. (2020): применение данной мембраны в качестве биологической повязки в тестовой группе способствовало снижению послеоперационного болевого синдрома и ускорило заживление донорской зоны.

Для создания барьерных мембран в пародонтологии используют желатин (Schulz S. et al., 2014; Guo B. et al., 2020). Данный компонент обладает отличной биосовместимостью, простотой в обработке и низкой стоимостью, что создает все условия для широкого клинического применения матриц и мембран, изготовленных на его основе (Rose J.V. et al., 2014; Guo B. et al., 2020). Из желатина была разработана синтетическая мембрана на основе нетканного материала. Данные мембраны производят с помощью технологии электроспиннинга со сшивкой *in situ*, что позволяет создавать градиентные фибриллярные структуры. Созданные трехмерные структуры близко имитируют нативный внеклеточный матрикс, способствуя росту и дифференцировке клеток в соответствии с паттернами окружающих клеток. Желатиновый матрикс дополнительно модифицируют, комбинируя слой градиента желатина со слоем поликапролактона, что позволяет у таких биогибридных полимерных мембран добиваться хороших механических свойств в водной среде, создавая у данного материала две поверхности: с одной стороны он представлен барьерной мембраной, а с другой стороны – в трехмерном каркасом сшитых нановолокон (Schulz S. et al., 2014; Jedrusik N. et al., 2018; Guo B. et al., 2020).

Guo B. et al. (2020) на культуре фибробластов десны человека проанализировали эффективность коммерчески выпускаемой биогибридной полимерной мембраны на основе желатина (Neo Modulus Medical, Китай), оценили экспрессию некоторых факторов роста и дифференцировки, а также способность данного материала индуцировать продукцию внеклеточного матрикса. Материалом сравнения был выбран трехмерный коллагеновый матрикс «Mucograft» (Geistlich Biomaterials, Швейцария), специально разработанный для регенерации мягких тканей, а пластик для тканевых структур был использован в

качестве контроля. Из мембран вырезали диски диаметром 6 мм, которые подвергали воздействию ультрафиолета в течение 45 минут с каждой стороны. Морфологию и микроструктуру фибробластов, выращенных на исследуемых матриксах, были проанализированы с помощью сканирующей электронной микроскопии. Количественная ПЦР в реальном времени была проведена через 3, 7 и 14 дней от начала эксперимента для оценки экспрессии генов, отвечающих за синтез коллагена I типа, TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA, FAK. На основании данных сканирующей электронной микроскопии пролиферация клеток, выращенных на желатиновом матриксе и пластике для тканевых структур, постепенно увеличивалась до 14 дней культивирования. Плотность клеток, растущих на желатиновой мембране, постепенно снижалась до тех пор, пока она не была полностью покрыта монослоем фибробластов. Также было показано, что данный материал не оказывал цитотоксического воздействия на клетки, что подтвердило его биосовместимость. В сравнении на коллагеновом матриксе «Mucograft» не поддерживалась пролиферация фибробластов, что повлияло на дальнейшее решение авторов исследования не проводить анализ экспрессии генов в данной экспериментальной группе. Экспрессия всех исследуемых генов в фибробластах, выращенных на желатиновой мембране, была выше, чем в группе сравнения во все контрольные даты. Экспрессия FAK в фибробластах в исследуемой группе была значительно увеличена на начальной фазе культивирования, что позволяет предположить, что данная мембрана благодаря своим структурным характеристикам способна поддерживать адгезию фибробластов десны. Экспрессия FAK снижалась через 14 суток, к этому моменту клеточные островки достигали слияния и начинали формировать многослойные структуры. Авторами исследования *in vitro* было продемонстрировано, что исследуемые биогибридные полимерные мембраны на основе желатина стимулируют адгезию, миграцию и дифференцировку фибробластов десны, что может служить предпосылкой для дальнейших исследований по использованию данного материала для регенерации слизистой оболочки и мягких тканей (Guo B. et al., 2020).



Обогащенный тромбоцитами фибрин (PRF) представляет собой второе поколение концентратов тромбоцитов. В тромбоцитах присутствует не менее 60 различных биологически активных веществ, которые участвуют в механизмах восстановления тканей, таких как хемотаксис, пролиферация и дифференциация клеток, ангиогенез, отложение внутриклеточного матрикса, иммуномодуляция, антимикробная активность и ремоделирование. PRF высвобождает высокие количества трех основных факторов роста: TGF- $\beta$ 1, PDGF-AB, VEGF, – и важный матричный гликопротеин свертывания крови тромбоспондин-1 в течение 7 суток. Считается, что в PRF концентрация тромбоцитов в семь раз выше, чем в крови. Также в составе обогащенного тромбоцитами фибрина содержатся EGF, FGF и три важных провоспалительных цитокина: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ . Обогащенный тромбоцитами фибрин обеспечивает отличный каркас для процесса ангиогенеза, влияет на активность нейтрофилов и индуцирует миграцию эпителиальных клеток (Choukroun J. et al., 2006; Rozman P., Volta Z., 2007; Jain V. et al., 2012; Kulkarni M.R. et al., 2014; Belkhede S.G. et al., 2019).

Kulkarni M.R. et al. (2014) опубликовали результаты применения PRF для закрытия донорской зоны на твердом небе. Для последующей пластики рецессии десны производили забор СДТ толщиной 1 мм в зоне премоляров и первого моляра. Пациенты, включенные в исследование, были разделены на две группы: в первой группе на донорскую зону накладывали PRF и затем пародонтологическую повязку, во второй группе – только пародонтологическую повязку. Для получения PRF 10 мл венозной крови центрифугировали со скоростью 3000 оборотов в течение 10 минут. Полученную тромбоцитарную массу сжимали между двумя кусками марли, чтобы сформировать мембрану толщиной 1мм. Полученную мембрану из PRF располагали в области донорской зоны и фиксировали швами, затем наносили безэвгенольную пародонтологическую повязку. Оценку заживления раны проводили на 7, 14 и 21 день после операции по следующим критериям: эпителизация раны, степень воспаления окружающих тканей, внешний вид краев раны. Послеоперационный болевой синдром оценивали на 7 сутки по шкале Wong и Baker (WBFS). При использовании PRF на 7 сутки не было

зафиксировано признаков воспаления тканей твердого неба, площадь раневой поверхности уменьшилась. Полное закрытие раны наблюдали к 14 суткам. В другой группе к 7 суткам еще сохранялись признаки воспаления окружающих донорский участок тканей, края раны были неровными. При осмотре на 14 сутки было констатировано неполное закрытие раны, а также незначительные воспалительные явления в окружающих тканях. Также пациенты в этой группе отмечали более выраженный послеоперационный болевой синдром, среднее значение которого составило  $4,625 \pm 1,06$ , тогда как при использовании мембраны из фибрина –  $3,3 \pm 1,42$  (Kulkarni M.R. et al., 2014).

Из препаратов, ускоряющих заживление ран, достаточно распространенным является дексапантенол (Sezgin Y. et al., 2019). Дексапантенол – это стабильная спиртовая форма пантотеновой кислоты. В тканях он окисляется до пантотеновой кислоты и стимулирует пролиферацию фибробластов, ускоряет реэпителизацию при заживлении ран (Heise R. et al., 2012). Пантотеновая кислота поддерживает клеточную антиоксидантную систему, которая играет важную роль в клеточной защите и системах восстановления от окислительного стресса и воспалительной реакции (Karadag A. et al., 2015; Sezgin Y. et al., 2019).

Дексапантенол является основным действующим веществом комбинированного препарата Oral-norm (Riga LMP Ltd, Латвия). В состав данного геля также входят силбиол (торговое название биологически активного комплекса, получаемого из хвои, который обладает как противовоспалительным, так и обезболивающим действием), ундециленовая кислота (подавляет морфогенез *Candida albicans*) и лидокаин (Kaushik D. et al., 2012; Sezgin Y. et al., 2019). Sezgin Y. et al. (2019) в эксперименте на крысах оценивали воздействие препарата Oral-norm (Riga LMP Ltd, Латвия) на скорость заживления открытых ран в области твердого неба. Диаметр раны к началу исследования соответствовал диаметру мукотома и составлял 3 мм. Все животные были разделены на две группы: в группе исследования на область раны трижды в день наносили гель с дексапантенолом, в группе сравнения никакого дополнительного воздействия на рану не оказывали. Однако по результатам проведенного гистологического и

гистоморфометрического исследования существенного влияния на заживление раны на твердом небе данный препарат не оказал, что авторы исследования связали с возможным вымыванием препарата с области созданного дефекта и предположили, что в дальнейших исследованиях следует использовать защитную капшу для стабилизации препарата.

Среди препаратов, способных ускорять заживление ран, получили распространение и экстракты лекарственных растений (Siddhuraju P., Becker K., 2003; Krishnaiah D. et al., 2009; Sahrakary M. et al., 2017). Amaliya A. et al. (2019) разрабатывали гель из растения *Moringa oleifera* Lamarck, произрастающего на территории Индонезии, для закрытия раневых дефектов полости рта. Согласно ранее проведенным исследованиям, в листьях этого растения содержатся витамин С,  $\beta$ -каротин, флавоноиды, фенолы и каротиноиды, которые обеспечивают антимикробное, противогрибковое и ранозаживляющее действие (Siddhuraju P., Becker K., 2003; Oluduro A.O., 2012; Elgamily H. et al., 2016; Moura M.C. et al., 2017). На модели пародонтита у крыс экстракт растения *M. oleifera* ранее продемонстрировал антибактериальный эффект против патогенов полости рта, таких как *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, а также снижение уровней IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  (Suarez M. et al., 2005; Sahrakary M. et al., 2017). На твердом небе наносили рану при помощи мукотома диаметром 4 мм. Для экспериментального исследования животные были разделены на 4 группы: в первой группе наносили гель с концентрацией экстракта листьев *M. oleifera* 2%, во второй группе – с концентрацией 4%, в третьей группе – 10% гель повидона-йода, в четвертой – на рану наносили гидроксипропил метилцеллюлозу, которая является основой разрабатываемых гелей с лекарственным экстрактом. Эффективность ранозаживляющего воздействия оценивали по результатам гистологического исследования на 3, 7, 10 и 14 сутки после начала эксперимента. По результатам гистологической оценки тканей слизистой оболочки твердого неба на третьи сутки при обработке гелем с этанольным экстрактом листьев *M. oleifera* отмечали миграцию фибробластов в область раны, на седьмые сутки – улучшенную пролиферацию фибробластов по сравнению с контрольной группой. К 10 суткам

было обнаружено, что количество фибробластов и образование новых коллагеновых волокон значительно выше в группе животных, получавших 4% гель с лекарственным экстрактом, чем в других исследуемых группах. По мнению авторов исследования, активация активности фибробластов является наиболее важным аспектом начальных этапов заживления раны.

Широкое распространение получили адгезивные резорбируемые пленки из натуральных и синтетических материалов. Они удобны в применении, надежно изолируют раневую поверхность и могут являться носителями лекарственных и биологически активных веществ, которые будут пролонгировать действие пленки (Ушаков Р.В. и соавт., 2000; Грудянов А.И., Зорина О.А., 2008; Зорина О.А. и соавт., 2014; Тимошин А.В. и соавт., 2018; Степанов М.А., 2020). Наиболее востребованными среди адгезивных препаратов для закрытия раневой поверхности оказались полимерные самоклеящиеся пленки «Диплен Дента». Двухслойная пленка «Диплен-Дента» состоит из гидрофильного и гидрофобного слоев (Грудянов А.И., Зорина О.А., 2008). Гидрофильный слой способен приклеиваться к влажной слизистой оболочке, раневой поверхности, гидрофобный слой – пластичный, способен моделироваться на поверхности слизистой оболочки, изолирует пораженный участок от внешних механических, химических и бактериальных воздействий. В состав данных пленок производители также вводят различные лекарственные вещества, например антисептические (хлоргексидин) и антибактериальные (линкомицин, метронидазол, гентамицин, клиндамицин) препараты, противовоспалительные и обезболивающие (лидокаин, кетопрофен) компоненты (Воложин А.И. и соавт., 2011; Грудянов А.И., Зорина О.А., 2008; Зорина О.А. и соавт., 2014; Пуляевский М.А. и соавт., 2015; Ушаков Р.В. и соавт., 2015; Жиров А.И., 2016; Арсенина О.И. и соавт., 2017; Зеленский И.В. и соавт., 2018; Ушаков Р.В. и соавт., 2019). Пленку необходимо наносить гидрофильной стороной на раневую поверхность и слегка удерживать в течение 1-1,5 минут. Пленка «Диплен-Дента С» содержит 0,05-0,09 мг солкосерила, который включен в гидрофильный слой пленки. Это комбинированный препарат, содержащий гликопептиды, нуклеотиды, аминокислоты, олигопептиды, микроэлементы и

оказывающий многофункциональное действие на рану: он активизирует транспорт кислорода и питательных веществ, усиливает внутриклеточный энергообмен, стимулирует регенерацию клеток, микроциркуляцию крови (Грудянов А.И., Зорина О.А., 2008; Зорина О.А. и соавт., 2014).

Belkhede S.G. et al. (2019) опубликовали результаты использования желатиновой губки в сравнении с PRF для закрытия донорской зоны на твердом небе после получения СДТ (толщиной 1,5-2 мм). Сравнение проводили по следующим параметрам: послеоперационный дискомфорт (по числовой рейтинговой шкале NRS), эпителизация раны, изменение режима питания и снижение чувствительности на небе. Согласно результатам, при использовании желатиновой губки пациенты отмечали меньший дискомфорт в области неба, а заживление произошло к концу второй недели наблюдения, тогда как при использовании PRF эпителизация наступила только по прошествии трех недель. Сроки эпителизации раны при использовании PRF соответствуют исследованию Femminella B. et al. (2016). Авторы связывают полученные результаты с тем, что желатиновая губка может способствовать свертыванию крови за счет образования механического матрикса, который имитирует естественный внеклеточный матрикс, обеспечивая трехмерную сеть для роста и пролиферации клеток. Кроме того, желатин обладает хорошей гидрофильностью, биоразлагаемостью и низкой антигенностью (Long H. et al., 2015).

Еще одной группой препаратов для закрытия открытых раневых поверхностей являются синтетические материалы. Аллопластические материалы не обладают антигенной чужеродностью, а неограниченность количества данного материала позволит закрыть дефект любой формы (Рябова Д.А. и соавт., 2016; Дурново Е.А. и соавт., 2018; Тирская О.И. и соавт., 2018). Широкое применение для закрытия раневых поверхностей получил полимерный материал Реперен (ООО «Репер НН», Н. Новгород, Россия) (Мочалова Д.А., 2015). Данный материал представляет собой пространственно сшитый полимер из олигомеров метакрилового ряда. Согласно данным производителя, материал обладает высокой эластичностью и способен принимать заданную форму, а также повышенной

устойчивостью к окислительным процессам и процессам адсорбции белка на поверхности (Мочалова Д.А., 2015). Из данного материала была разработана матрица для закрытия открытых ран в полости рта (Рябова Д.А. и соавт., 2016).

Рябова Д.А. и соавт. (2016) в экспериментальном исследовании на кроликах оценивали эффективность применения синтетического полимерного материала Реперен для закрытия раны на твердом небе. Созданный мягкотканый дефект на половину закрывали полимерной матрицей, которую фиксировали узловыми швами к краям раны; вторая половина дефекта заживала вторичным натяжением. На 3, 5 и 7 сутки проводили гистологическую оценку репаративных процессов, а интенсивность эпителизации оценивали при помощи мазков-отпечатков с последующим цитологическим методом исследования. На третьи сутки после получения СДТ отмечали обширную зону некроза тканей с выраженной нейтрофильной инфильтрацией, полнокровием сосудов и отеком, признаков формирования грануляционной ткани также не фиксировали. При использовании полимерной матрицы для закрытия дефекта отмечали наличие небольших участков некроза, умеренную нейтрофильную и лимфогистиоцитарную инфильтрацию, полнокровие сосудов, а также начало формирования грануляционной ткани. К пятым суткам при спонтанном заживлении раны площадь зоны некроза сократилась вдвое, а также снизилась нейтрофильная инфильтрация. В некоторых полях зрения встречались грануляционная ткань и небольшие участки формирующейся соединительной ткани. На экспериментальном участке слизистой оболочки к пятым суткам полностью исчезли нейтрофилы, активно шли процессы формирования грануляционной и соединительной тканей. К седьмым суткам на контрольном участке слизистой оболочки полностью отсутствовала нейтрофильная инфильтрация, активно развивались грануляционная и соединительная ткань, отмечалась умеренная круглоклеточная инфильтрация. При использовании препарата Реперен к седьмым суткам слизистая оболочка соответствовала слизистой обычного вида с развитием новообразованной грануляционной и нежноволокнистой соединительной ткани в подслизистом слое. При проведении цитологического исследования авторы отметили существенные

различия в сроках эпителизации: на пятые сутки в мазках-отпечатках раны, заживавшей открытым способом, сохранялось значительное количество эритроцитов, а при использовании защитной матрицы отмечали увеличение дифференцированных эпителиальных клеток. К седьмым суткам в отпечатках с контрольного участка слизистой оболочки встречались единичные эпителиоциты, тогда как на экспериментальном участке происходила эпителизация раны за счет активного формирования эпителиоцитов. Было отмечено, что при использовании синтетической матрицы для закрытия раневой поверхности сокращаются сроки заживления раны и формирования грануляционной и соединительной ткани, а также ускорение эпителизации в два раза (Рябова Д.А. и соавт., 2016).

На клиническом этапе исследования данной полимерной матрицы Дурново Е.А. и соавт. (2018) также отметили, что Реперен способствовал формированию грануляционной ткани и сокращению площади раневой поверхности на твердом небе, а также снижал вероятность развития послеоперационных осложнений в донорской зоне, таких как возникновение вторичного кровотечения и инфицирование раны.

Для ведения открытых раневых поверхностей также применяют и препараты на основе коллагена, который оказывает стимулирующее действие на репаративные процессы (Зорина О.А. и соавт., 2014; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Молчанов А.М., 2016; Тирская О.И. и соавт., 2018; Тимошин А.В., 2019; Морозов А.М. и соавт., 2020; Shanmugam M. et al., 2010). В основном используют матрицы, содержащие коллаген I и III типов (Toledano M. et al., 2020). Коллаген обеспечивает хороший гемостатический эффект в ранний послеоперационный период за счет агрегации тромбоцитов, а также обладает хемотаксическим действием по отношению к фибробластам и тромбоцитам, индуцирует мезенхимальную пролиферацию и дифференцировку, не вызывает реакции с инородными телами. При лизисе экзогенного коллагена раневая поверхность обогащается аминокислотами, которые участвуют в процессах синтеза. Биодegradация коллагеновых покрытий происходит в течение 14-16 дней, следовательно, не требуется проведения повторного нанесения их на рану. Они

защищают раневую поверхность от инфицирования, снижают/устраняют механическое, химическое и термическое воздействие на рану, снижают болевые ощущения. Продукты биодegradации коллагена активируют пролиферативные процессы в окружающих тканях, а также служат пластическим материалом для регенерирующих тканей (Мороз Б.Т., Рохваргер И.С., 2001; Грудянов А.И., Зорина О.А., 2008; Зорина О.А. и соавт., 2014; Молчанов А.М., 2016; Морозов А.М. и соавт., 2020; Shanmugam M. et al., 2010).

Зорина О.А. и соавт. (2014) сравнивали эффективность применения коллагеновых пластин «Тахокомб» для закрытия раневых поверхностей полости рта с широко распространенной в стоматологической практике самоклеящейся пленкой «Диплен-Дента С». Все пациенты, включенные в исследование, относились к группе риска по развитию послеоперационных кровотечений: из общесоматических заболеваний у них определяли гипертоническую болезнь, сахарный диабет и нарушения свертываемости крови. В группе исследования на раневую поверхность на нижней губе после проведения вестибулопластики по Эдлану-Мейхеру наносили коллагеновую пластину (толщина 0,5 см), 1 см<sup>2</sup> которой содержит 4,3-6,7 мг человеческого фибриногена, 1,5-2,5 МЕ бычьего тромбина и 0,055-0,087 ЕФЕ апротинина. В группе сравнения 1 раз в день в течение 10 дней на раневую поверхность накладывали полимерную самоклеящуюся двухслойную пленку «Диплен-Дента С». В ходе исследования было отмечено, что коллагеновое раневое покрытие образовывало на раневой поверхности водо- и воздухонепроницаемую пленку, обладало высокой степенью адгезии к ране, выраженным гемостатическим эффектом. Коллагеновая пленка приобретала хорошую эластичность, не смещалась при приеме пищи и разговоре, не ограничивала движения губ. К 2-3 суткам отмечалась постепенная резорбция коллагенового покрытия с одновременным замещением его грануляционной тканью. К 12-14 суткам рана была полностью эпителизирована без формирования грубых рубцовых изменений. У пациентов другой группы отмечали хорошую фиксацию пленки Диплен к раневой поверхности и ее стабильность в течение нескольких часов. У трех пациентов было отмечено интенсивное кровотечение в



раннем послеоперационном периоде, что приводило к смещению пленки. Обезболивающий эффект данного препарата достаточно непродолжительный, а большим недостатком его применения являлась необходимость повторного нанесения пленок. В среднем срок эпителизации раны у пациентов этой группы составил 14-16 суток.

Хорошие клинические результаты заживления раневых поверхностей в полости рта получены и при использовании различных пародонтальных повязок. Основной принцип работы данных препаратов – это создание инертного механического барьера в области раны и снижение внешнего воздействия. Еще одним направлением в поиске наиболее подходящего средства для закрытия раневых поверхностей является разработка пародонтальных повязок с биоактивным действием, которые смогут ускорять процессы заживления, влияя на поведение клеток в ране (Cullen B. et al., 2002; Shanmugam M. et al., 2010).

Shanmugam M. et al. (2010) сравнивали клиническую эффективность коллагеновой повязки Colla Cote® (Zimmer Dental CA, США) и наиболее распространенной безэвгенольной пародонтальной повязки Coe Pak™ (GC America Inc., США) для закрытия донорской зоны на твердом небе. Повязка Colla Cote® состоит из коллагена I и IV типов. После получения СДТ на раневую поверхность в тестовой группе наносили коллагеновую повязку, в контрольной группе – безэвгенольную повязку; также всем пациентам дополнительно были изготовлены защитные каппы на твердое небо. В рамках проведенного клинического исследования оценивали такие параметры как боль, ощущение жжения на твердом небе, консистенция, толщина слизистой оболочки, а также проводили гистологическое исследование новообразованных тканей. Послеоперационный болевой синдром и дискомфорт в области твердого неба на 2 сутки были более выражены среди пациентов контрольной группы, однако к 7 суткам показатели субъективных ощущений в исследуемых группах становились примерно одинаковыми. По мнению авторов работы, уменьшение боли в раннем послеоперационном периоде связано со способностью коллагена снижать степень выраженности острого воспалительного процесса на первых этапах заживления

ран. Согласно другим критериям оценки эффективности коллагеновая повязка ускорила процесс заживления: в тестовой группе к 14 суткам была отмечена большая плотность новообразованной ткани, а к 42 суткам также была зафиксирована большая толщина тканей по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об интеграции коллагеновой повязки с тканями слизистой оболочки твердого неба. При сравнении биоптатов, полученных после 42 суток от начала наблюдения, в образцах контрольной группы встречалось большее число воспалительных клеток и меньший обмен коллагена, тогда как при использовании повязки Colla Cote ® было отмечено формирование более зрелых коллагеновых волокон.

Таким образом, анализ литературы показал, что проблема заживления открытых раневых поверхностей слизистой оболочки рта остается актуальной и в настоящее время. Высокая вероятность инфицирования, травматизации, а как следствие длительного кровотечения и болевой симптоматики, отсутствие четких рекомендаций и протоколов ведения раны делает хирургическое стоматологическое лечение длительным и неприятным для пациента. Отсутствие оптимального материала для создания тканевого эквивалента слизистых оболочек, обеспечивающих также защитную функцию, отсутствие в доступной литературе общепризнанных хирургических критериев выбора данных материалов, а также отсутствие экспериментальной модели для исследования их свойств явились основаниями для проведения данного исследования.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальное исследование было проведено на кафедре хирургической стоматологии Института стоматологии им. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) с целью повышения эффективности хирургического стоматологического лечения путем экспериментальной разработки метода закрытия послеоперационных раневых дефектов слизистой оболочки рта.

### **2.1. Характеристика экспериментального исследования**

Для достижения поставленной цели был разработан дизайн исследования (Рисунок 1) и создана экспериментальная модель на животных (кроликах), аналогичная клинической. На слизистой оболочке твердого неба можно провести хирургическое вмешательство на экспериментальных животных по аналогии с хирургическим вмешательством у пациентов в клинике для объективного сравнения результатов применения различных материалов. Выбор животных для экспериментальной модели обоснован тем, что у кроликов возможно создать раневую поверхность, совпадающую по площади с раневой поверхностью у пациентов при проведении забора СДТ из области твердого неба.

На базе Центрального вивария ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в мае 2019 года было проведено одноцентровое проспективное нерандомизированное поперечное экспериментальное исследование.

На проведение исследования было получено разрешение Локального этического Комитета (выписка из протокола заседания №05-19 от 10.04.2019).

В эксперименте были использованы 36 кроликов породы Шиншилла, половозрелые самцы, массой тела около 4,0 кг, средняя масса  $3,8 \pm 0,15$  кг, в возрасте 6 месяцев.



Рисунок 1 – Дизайн экспериментального исследования

Исследование было проведено строго в соответствии с законодательной базой с соблюдением принципов гуманного обращения с животными в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.), ETS N 123, «Международными рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», разработанными и опубликованными в 1985 г. Советом международных научных организаций, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приложением к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. №755, Приказом №742 Министерства высшего и среднего специального образования СССР «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» от 13.11.1984 г., Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199Н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.2016 г., Межгосударственным стандартом ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и

организации процедур», Межгосударственным стандартом ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», положениями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях (Статья 27).

После приобретения в течение двух недель животные находились на карантине. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Были оборудованы клетки с предусмотренными углублениями для корма и решетчатыми крышками из стали, в качестве подстилки служили древесные опилки из лиственных пород дерева. Температура в виварии составляла 18-22°C, относительная влажность 50-65%, 12-часовой цикл освещения, смена объема воздуха помещения в час десятикратна. Рацион вивария стандартный: питание животных осуществлялось комбинированным кормом для лабораторных животных (микробиологический статус соответствовал ГОСТ Р 51849-2001 «Продукция комбикормовая» и Ветеринарно-санитарным нормам и требованиям к качеству кормов для непродуктивных животных, утвержденных Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации 15 июля 1997 г. № 13-7-2/1010), а также фильтрованной водопроводной водой *ad libitum* в стандартных питьевых бутылочках (микробиологический статус воды соответствовал санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. СанПиН 2.1.4.1074-01», утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 26.09.2001).

Все манипуляции с экспериментальными животными и выведение их из эксперимента проводилось под общим обезболиванием.

Перед проведением оперативного вмешательства животных взвешивали и рассчитывали необходимое количество препаратов для проведения обезболивания. Наркоз осуществляли комбинацией препаратов «Золетил» (Virbac, Франция)

(5мг/кг массы животного) и «Ксила» (Interchemie, Нидерланды) (0,2мл/кг массы животного) путем внутримышечного введения.

В условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики у животных формировали дефект слизистой оболочки твердого неба размером 5х5 мм при помощи скальпеля, толщина удаленной слизистой составляла 2 мм.

Послеоперационные мероприятия заключались в кормлении животных размягченным кормом с целью снижения травматического воздействия на раневую поверхность на твердом небе.

## **2.2. Оценка течения раневого процесса в донорской зоне**

Послеоперационный контроль осуществляли на 3, 6, 10 сутки: оценивали общее состояние лабораторных животных, болевой компонент течения раневого процесса, степень выраженности гиперемии и отека тканей твердого неба, кровоточивость донорской зоны.

*Боль* в области проведенного хирургического вмешательства мы оценивали по изменению пищевого поведения лабораторных животных: в случае отсутствия изменений в объеме употребляемого корма считали, что болевой компонент отсутствовал, а при отказе от кормления – болевой компонент был значительным. Для определения силы боли в области твердого неба была использована балльная система:

0 баллов – боли нет;

1 балл – слабая боль;

2 балла – умеренная боль;

3 балла – выраженная боль.

Оценку *степени гиперемии слизистой оболочки твердого неба* проводили по визуальной оценке. Для определения степени выраженности гиперемии также была использована балльная система (Ершова А.М., 2017):

0 баллов – бледно-розовый цвет слизистой оболочки;

1 балл – легкая гиперемия;

2 балла – умеренная гиперемия;

3 балла – яркая гиперемия.

Аналогичны образом мы оценивали и *степень выраженности отека* в области проведенного хирургического вмешательства (Ершова А.М.,2017):

0 баллов – отсутствие отека;

1 балл – незначительный отек;

2 балла – умеренно выраженный отек;

3 балла – выраженный отек.

Кровоточивость слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани в донорской зоне оценивали при помощи зондирования:

0 баллов – кровоточивость отсутствует;

1 балл – кровоточивость проявляется при зондировании;

2 балла – спонтанная кровоточивость тканей.

Во время проведения контрольных осмотров фиксировали показатели общего состояния лабораторных животных, внешний вид донорской зоны и состоятельность наложенных швов, оценивали сроки заживления, развитие послеоперационных осложнений, таких как некроз слизистой оболочки.

Полученные данные послеоперационного обследования лабораторных животных вносили в первичную документацию, а также в общую итоговую таблицу.

### **2.3. Распределение животных по группам экспериментального исследования**

У животных 1 группы (n=12) на слизистой оболочке твердого неба формировали раневую поверхность размером 5x5 мм, к краям которой фиксировали коллагеновую мембрану из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом.

У животных 2 группы (n=12) на слизистой оболочке твердого неба формировали раневую поверхность размером 5x5 мм, к краям которой фиксировали коллагеновую пленку с левомецетином и метилурацилом.

У животных группы сравнения (n=12) на слизистой оболочке твердого неба формировали раневую поверхность размером 5x5 мм. Заживление раневой поверхности проходило путем вторичного натяжения тканей.

Выведение животных из эксперимента проводили на 3 (12 кроликов), 6 (12 кроликов), 10 сутки (12 кроликов) от начала эксперимента после проведения операции по забору биоптата из области твердого неба для гистологического исследования путем передозировки внутримышечного наркоза «Золетил» (15 мг/кг) и «Ксила» (0,6 мл/кг) (Таблица 1).

Таблица 1 – Распределение животных по группам исследования

Группы исследования	Сроки выведения животных из эксперимента			Всего (n)
	3 сутки	6 сутки	10 сутки	
Группа 1 (коллагеновая мембрана)	4	4	4	12
Группа 2 (коллагеновая пленка)	4	4	4	12
Группа сравнения (заживление вторичным натяжением)	4	4	4	12
Итого	12	12	12	36

#### 2.4. Характеристика используемых материалов

Использованные в данном исследовании материалы являются собственной разработкой Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). В состав разработанных коллагеновых мембран и пленок были введены левомецетин и метилурацил.

Левомецетин представляет собой антибактериальный препарат широкого спектра действия, обладающий бактериостатическим действием. Он активен в отношении грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus spp.*,



*Streptococcus* spp., грамотрицательных бактерий *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Yersinia* spp., *Rickettsia* spp., *Klebsiella* spp. Данный антибактериальный препарат также активен в отношении штаммов, устойчивых к пенициллину, стрептомицину и сульфаниламидам.

Метилурацил относится к группе препаратов, улучшающих трофику и регенерацию тканей. Он способствует нормализации обмена нуклеиновых кислот, ускоряет процессы регенерации в ранах, ускоряет рост и созревание грануляционной ткани, активизирует клеточные и гуморальные факторы иммунитета, обладает анаболической активностью и противовоспалительным действием.

#### **2.4.1. Характеристика коллагеновой мембраны из ксеноперикарда**

Данная мембрана изготовлена из коллагена I типа, получаемая в результате стандартизованного и контролируемого процесса. Коллаген получают из бычьего перикарда щелочно-солевым методом. При изготовлении использовали фармацевтическую субстанцию разваренного коллагена для создания рыхлого слоя, прилипающего к ране, в который вносили левомецетин и метилурацил. Далее подвергали лиофилизации (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Внешний вид коллагеновой мембраны из ксеноперикарда

Мембрана имеет пористую структуру: пористый слой обращают к раневой поверхности, плотный слой – в полость рта (Рисунок 3).

Волокнистая микроструктура мембраны является гидрофильной. Мембрана сохраняет свою структурную целостность даже во влажном состоянии, легко адаптируется к раневой поверхности.



Рисунок 3 – Двухслойная структура коллагеновой мембраны из ксеноперикарда

Мембраны выпускают стерильными. Стерилизацию осуществляют при помощи гамма-лучей. Коллагеновые мембраны были упакованы в двухслойный полиэтиленовый пакет.

Для работы с коллагеновой мембраной ее извлекают из упаковки непосредственно перед нанесением на раневую поверхность. Далее при помощи стерильных ножниц мембрану адаптируют до необходимого размера для соответствия форме и площади дефекта и наносят на рану шероховатой поверхностью. Полное пропитывание кровью обеспечивает хорошую адаптацию и прилипание к раневой поверхности, а также способствует образованию кровяного сгустка под мембраной. Для исключения смещения мембраны ее можно зафиксировать к краям раны при помощи швов. Коллагеновая мембрана не требует удаления с раневой поверхности, поскольку подвергается полной резорбции.

Согласно данным разработчиков, в очень редких случаях на коллаген возможно развитие аллергических реакций. Возможными осложнениями после применения коллагеновой мембраны могут являться отек в месте хирургического вмешательства, развитие местной воспалительной реакции, нагноение раны.

#### **2.4.2. Характеристика модифицированной коллагеновой пленки**

Коллагеновая пленка изготавливается из дермы крупного рогатого скота. В процессе обработки дерма проходит этапы химической и механической обработки: происходит размягчение ее структуры, дробления и деления на волокна, после чего формируют коллагеновую массу. Из полученной массы способом экструзии и последующей сушки изготавливают саму пленку (Рисунок 4).

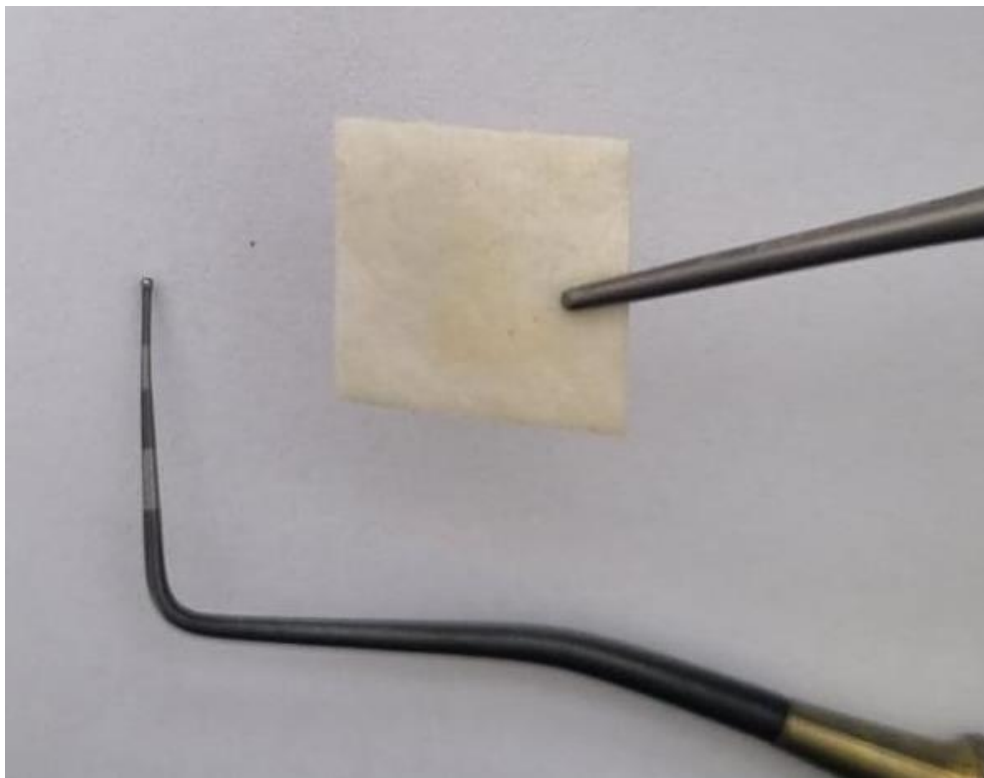


Рисунок 4 – Внешний вид модифицированной коллагеновой пленки

Пленка представляет собой пластины светло-желтого цвета с пористой структурой и рельефной поверхностью (Рисунок 5). В состав были введены левомецетин и метилурацил для создания в ране бактерицидной среды.

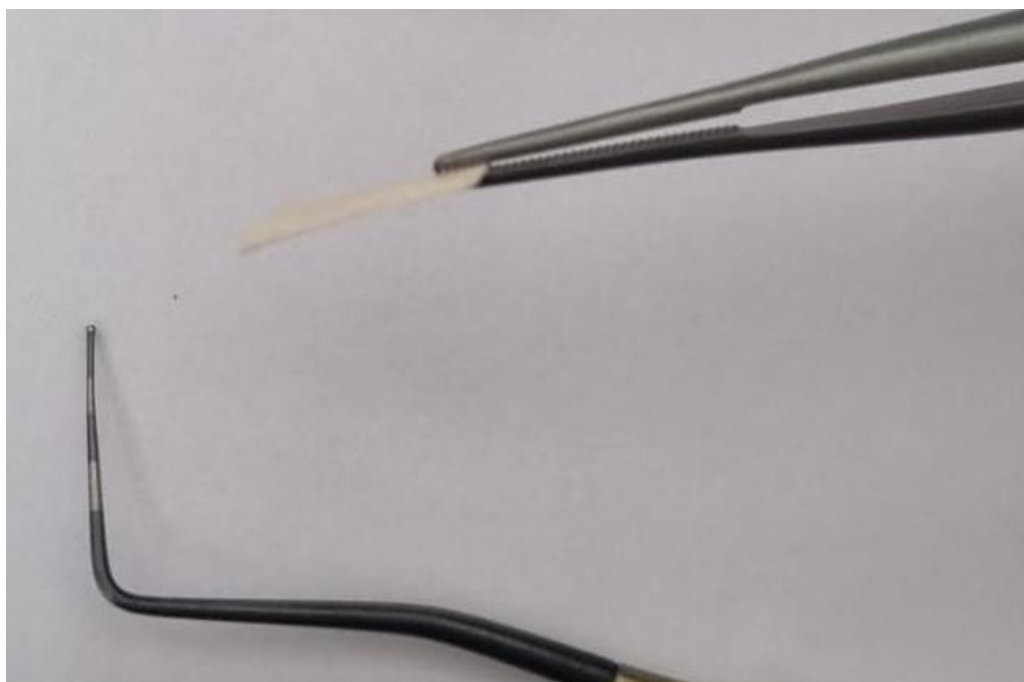


Рисунок 5 – Пористая структура модифицированной коллагеновой пленки

Пленки выпускают стерильными. Стерилизацию осуществляют при помощи гамма-лучей. Коллагеновая пленка была упакована в двухслойный полиэтиленовый пакет.

Для работы с данным материалом его извлекают из упаковки непосредственно перед нанесением на раневую поверхность. Далее при помощи стерильных ножниц пленку обрезают до необходимого размера для соответствия форме и площади дефекта. Пленку необходимо нанести на кровоточащую область и прижать к раневой поверхности на 1-2 минуты. После пропитывания кровью пленка плотно прилежит к кровоточащей поверхности. При необходимости пленку можно зафиксировать к краям раны при помощи швов или затампонировать кровоточащую поверхность с последующим фиксированием. Коллагеновую пленку можно не удалять из области раневого дефекта, поскольку впоследствии она полностью резорбируется.

## 2.5. Методы проведения хирургических вмешательств

У животных, использованных для эксперимента, проводили операцию получения свободного десневого трансплантата из области твердого неба с применением различных видов мембран для закрытия раневой поверхности, в зависимости от распределения животных по группам исследования.

Контроль за состоянием животных осуществляли на 3, 6, 10 сутки после оперативного вмешательства.

Под внутримышечным наркозом («Золетил» (Virbac, Франция) (5мг/кг массы животного) и «Ксила» (Interchemie, Нидерланды) (0,2мл/кг массы животного)) и дополнительной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS 1:200000 (0,1 мл/кг массы животного) с содержанием вазоконстриктора (эпинефрин) для местного сужения просвета сосудов и контроля кровоточивости тканей проводили замер предполагаемого по форме и размеру дефекта (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Определение зоны забора СДТ

Далее при помощи скальпеля и лезвия 15С выполняли забор СДТ толщиной 2 мм (Рисунок 7, Рисунок 8, Рисунок 9).



Рисунок 7 – Выполнение разрезов на слизистой оболочке твердого неба при заборе СДТ



Рисунок 8 – Получение СДТ





Рисунок 9 – Внешний вид полученного СДТ

Во время оперативного вмешательства осуществляли тщательный гемостаз донорского участка (Рисунок 10).



Рисунок 10 – Раневая поверхность на твердом небе

Из стерильной упаковки извлекали коллагеновые мембраны. Ножницами вырезали имплантат требуемых формы и размера, который будет соответствовать созданному дефекту на твердом небе (Рисунок 11).

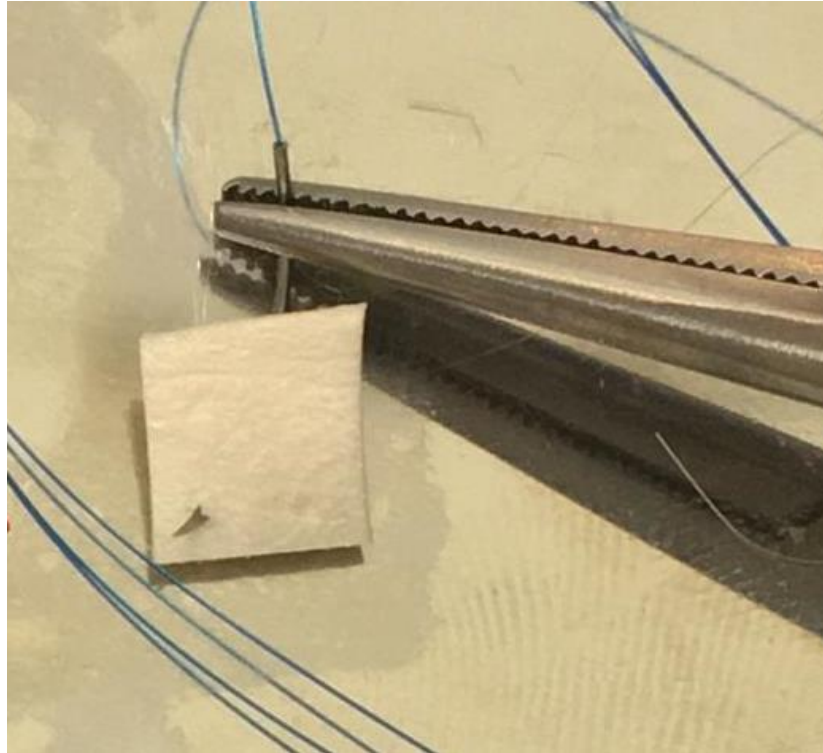


Рисунок 11 – Подготовленный к фиксации фрагмент коллагеновой мембраны

Полученный имплантат укладывали на раневую поверхность таким образом, чтобы он перекрывал края раны на 3 мм с целью препятствия дополнительного повреждения донорского участка.

Мембрану фиксировали монофиламентным синтетическим шовным материалом «Prolene» (диаметр нити 6-0, атравматичная игла 3/8) узловыми швами (Рисунок 12).



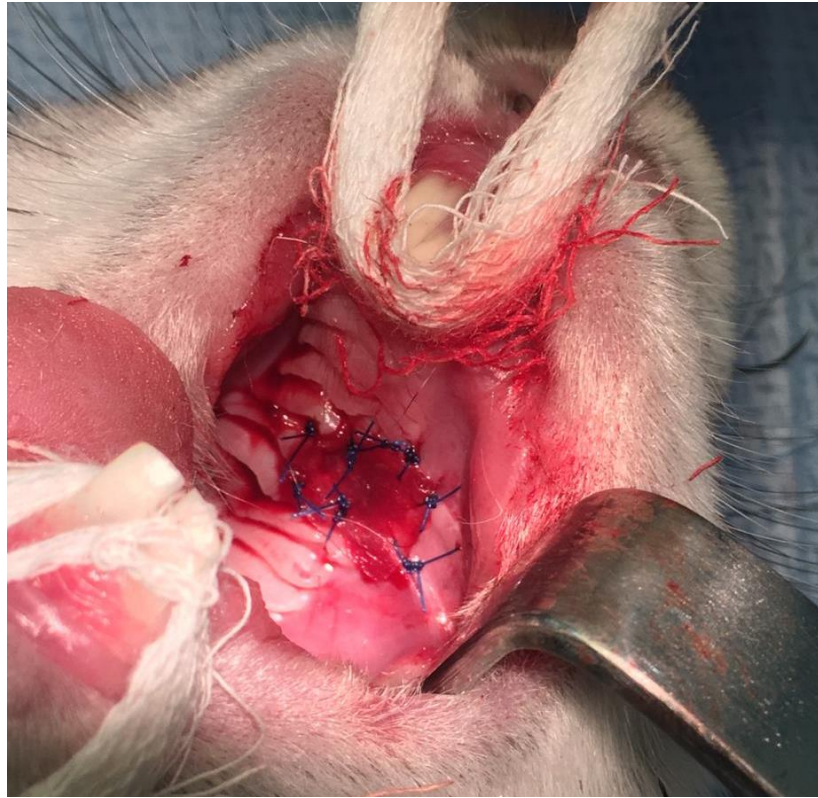


Рисунок 12 – Коллагеновая мембрана фиксирована к ране узловыми швами

У животных группы сравнения донорский участок заживал вторичным натяжением без использования каких-либо дополнительных материалов.

Повторное оперативное вмешательство проводили в сроки выведения животных из эксперимента и проводили забор полнослойного трансплантата твердого неба в области ранее сформированного дефекта, частично захватывая по краям интактную слизистую оболочку.

## **2.6. Гистологический метод исследования**

На 3, 6 и 10 сутки у животных, которых выводили в данный день из эксперимента, проводили забор полнослойного трансплантата твердого неба в области ранее сформированного дефекта, частично захватывая по краям интактную слизистую оболочку.

Образцы слизистой оболочки (биоптаты) фиксировали в 10%-нейтральном растворе формалина, проводили через заливочные среды, парафиновые срезы толщиной 4-5 микрон окрашивали гематоксилином и эозином.

Изучение и анализ полученных образцов осуществляли в универсальном микроскопе Leica DM4000 B LED, оснащенного видеокамерой Leica DFC7000 T. Микрофотографии препаратов были сделаны с помощью этой камеры и компьютерной программы LAS V48.

На основании полученных гистологических препаратов было проведено гистоморфометрическое исследование наличия лимфогистоцитарной (круглоклеточной) и лейкоцитарной (нейтрофильной) инфильтрации, определение площади грануляционной ткани, соединительной ткани и некротизированных тканей. Морфометрическую оценку числа клеточных элементов и площади формирования новых тканей проводили при помощи автоматического расчета среднего значения из 10 полей зрения при увеличении в 400 раз.

## **2.7. Статистические методы обработки**

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2019. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50), а также показатели асимметрии и эксцесса.

Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3).

Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

При сравнении нескольких выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовался критерий Краскела-Уоллиса, являющийся непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа.

Критерий Краскела-Уоллиса вычислялся после ранжирования всех элементов анализируемых совокупностей по следующей формуле:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1)$$

где

$H$  – критерий Краскела-Уоллиса,

$n$  – общее число исследуемых,

$R_i$  – сумма рангов исследуемых, относящихся к определенной выборке,

$k$  – число сопоставляемых выборок.

В том случае, если рассчитанное значение критерия Краскела-Уоллиса превышало критическое, различия показателей считались статистически значимыми. В противном случае признавалась верной нулевая гипотеза.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальное исследование было проведено на 36 кроликах породы Шиншилла, массой тела около 4,0 кг (средняя масса  $3,8 \pm 0,15$  кг) в возрасте 6 месяцев. Всех животных разделили на 3 группы по способу заживления раневой поверхности на слизистой оболочке твердого неба: у животных 1 группы ( $n=12$ ) созданный дефект закрывали при помощи коллагеновой мембраны из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом, у животных 2 группы ( $n=12$ ) использовали коллагеновую пленку с левомецетином и метилурацилом, у животных группы сравнения ( $n=12$ ) рана заживала вторичным натяжением.

#### 3.1. Результаты оценки течения раневого процесса в донорской зоне

На 3, 6 и 10 сутки после создания дефекта слизистой оболочки на твердом небе проводили контроль состояния экспериментальных животных, а также оценивали особенности течения раневого процесса по таким признакам как болевой синдром, степень выраженности гиперемии и коллатерального отека слизистой оболочки, а также кровоточивость раневой поверхности.

##### *Оценка болевого синдрома.*

Интенсивность послеоперационного болевого синдрома оценивали в баллах, которые соответствовали изменению пищевого поведения экспериментальных животных. Как и при проведении любого другого оперативного вмешательства, получение СДТ сопровождалось болевым синдромом, интенсивность которого у животных всех исследуемых групп была наибольшей на 3 сутки после начала эксперимента ( $1,58 \pm 0,2$  балла при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда,  $1,92 \pm 0,24$  балла при использовании коллагеновой пленки и  $2,5 \pm 0,16$  балла при заживлении вторичным натяжением). На протяжении всего периода наблюдения регистрировали постепенное снижение интенсивности болевого синдрома до минимальных значений к 10 суткам ( $0,25 \pm 0,29$  балла у

животных 1 группы,  $0,5 \pm 0,33$  балла у животных 2 группы и  $1 \pm 0,47$  балла у животных группы сравнения). Средние показатели выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных в динамике представлены в Таблице 2 и на Рисунке 13.

Таблица 2 — Выраженность болевого синдрома у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в баллах)

	Выраженность болевого синдрома ( $M \pm m$ )		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1	$1,58 \pm 0,2$	$1,13 \pm 0,13$	$0,25 \pm 0,29$
Группа 2	$1,92 \pm 0,24$	$1,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,33$
Группа сравнения	$2,5 \pm 0,16$	$1,63 \pm 0,2$	$1 \pm 0,47$
Достоверность различия результатов	$h=9,04167$ $p=0,01088$ $p < 0,05$	$h=4,27143$ $p=0,11816$ $p > 0,05$	$h=2,36905$ $p=0,3589$ $p > 0,05$

Примечание: различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$

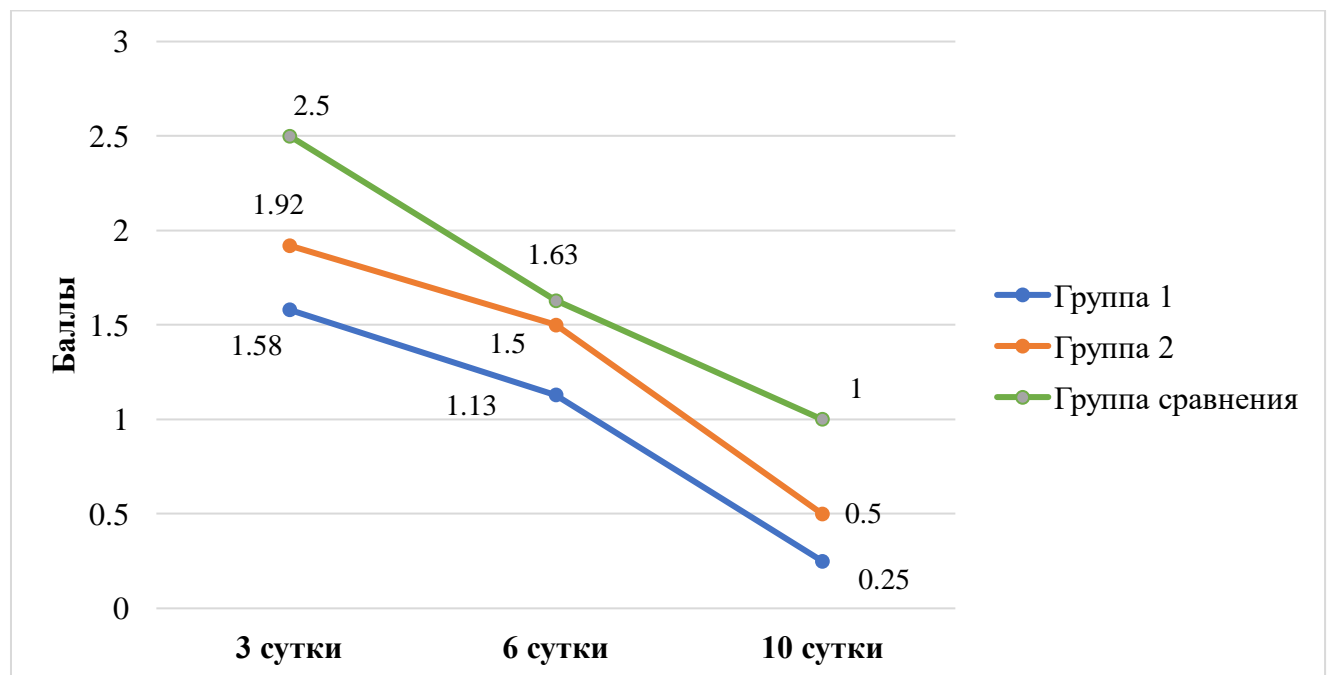


Рисунок 13 – Динамика выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

В данной таблице продемонстрировано, что средние значения интенсивности боли в баллах на 3 сутки после получения СДТ в исследуемых группах достоверно ниже, чем в группе сравнения ( $p \leq 0,05$ ). При этом статистический анализ

интенсивности болевого синдрома на 6 и 10 сутки при закрытии раневой поверхности препаратами на основе коллагена и при заживлении вторичным натяжением не показал достоверных различий между собой.

Был проведен анализ выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных внутри каждой из исследуемых групп и групп между собой. Для этого в каждой из групп определяли процент животных, у которых регистрировали боль различной интенсивности. Результаты представлены в Таблице 3 и на Рисунках 14-16.

Таблица 3 – Выраженность болевого синдрома у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в процентах %)

	Удельный вес животных с разной степенью болевого синдрома		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1			
отсутствует	0	0	75
слабая	50	87,5	25
умеренная	41,7	12,5	0
выраженная	8,3	0	0
Всего	100	100	100
Группа 2			
отсутствует	0	0	50
слабая	33,3	50	50
умеренная	41,7	50	0
выраженная	25	0	0
Всего	100	100	100
Группа сравнения			
отсутствует	0	0	25
слабая	0	37,5	50
умеренная	50	62,5	25
выраженная	50	0	0
Всего	100	100	100

Наиболее выраженным болевой синдром на 3 сутки был у животных в группе сравнения, где созданный дефект заживал вторичным натяжением: у всех животных была зафиксирована умеренная (50%) или выраженная (50%) боль. Более благоприятная картина была отмечена при использовании коллагеновой

пленки из дермы: лишь у 25% кроликов регистрировали выраженный болевой синдром, а у трети животных (33,3%) болевой синдром был слабым. При использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда отмечена наименьшая интенсивность болевого синдрома в раннем послеоперационном периоде: половина исследуемых животных испытывали слабую боль, а выраженная была зарегистрирована у 8,3%.

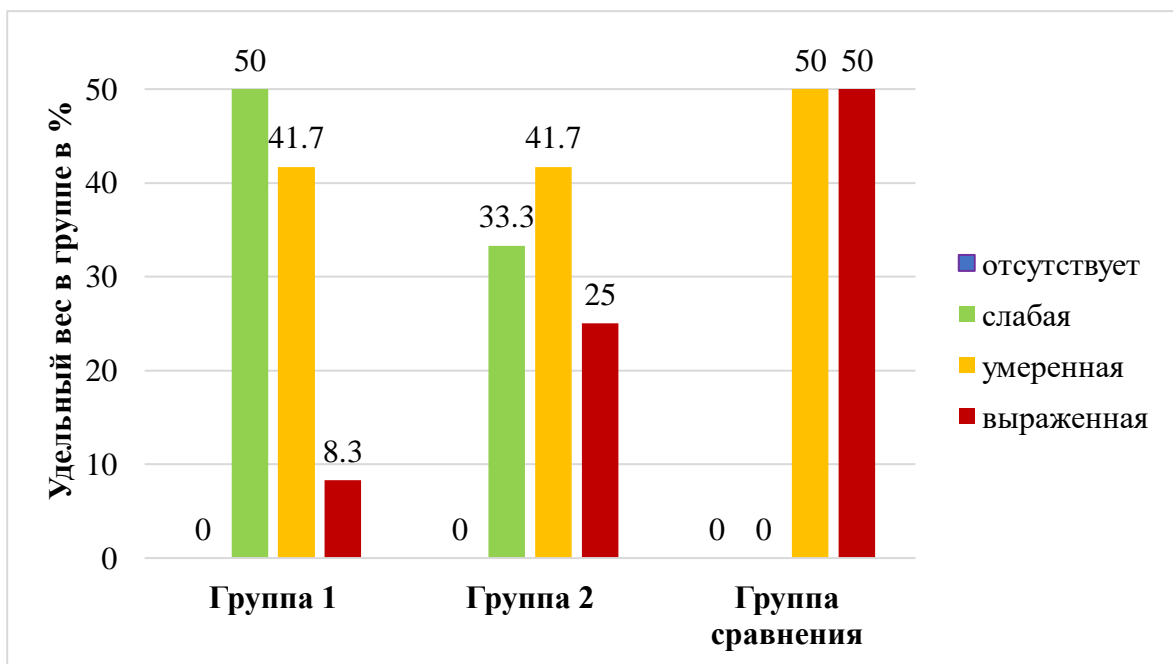


Рисунок 14 – Сравнительная частота выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных на 3 сутки после проведения оперативного вмешательства

Сравнение частоты возникновения болевого синдрома различной степени выраженности у экспериментальных животных на 6 сутки демонстрирует снижение его интенсивности во всех исследуемых группах, при этом выраженный болевой синдром не был зафиксирован. При использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда у 12,5% животных определяли умеренные болевые ощущения; при закрытии раневой поверхности коллагеновой пленкой у половины животных отмечали боль слабой интенсивности и у других 50% – умеренный болевой синдром. Наименее благоприятной картина была отмечена в группе сравнения: 62,5% кроликов испытывали умеренные болевые ощущения.

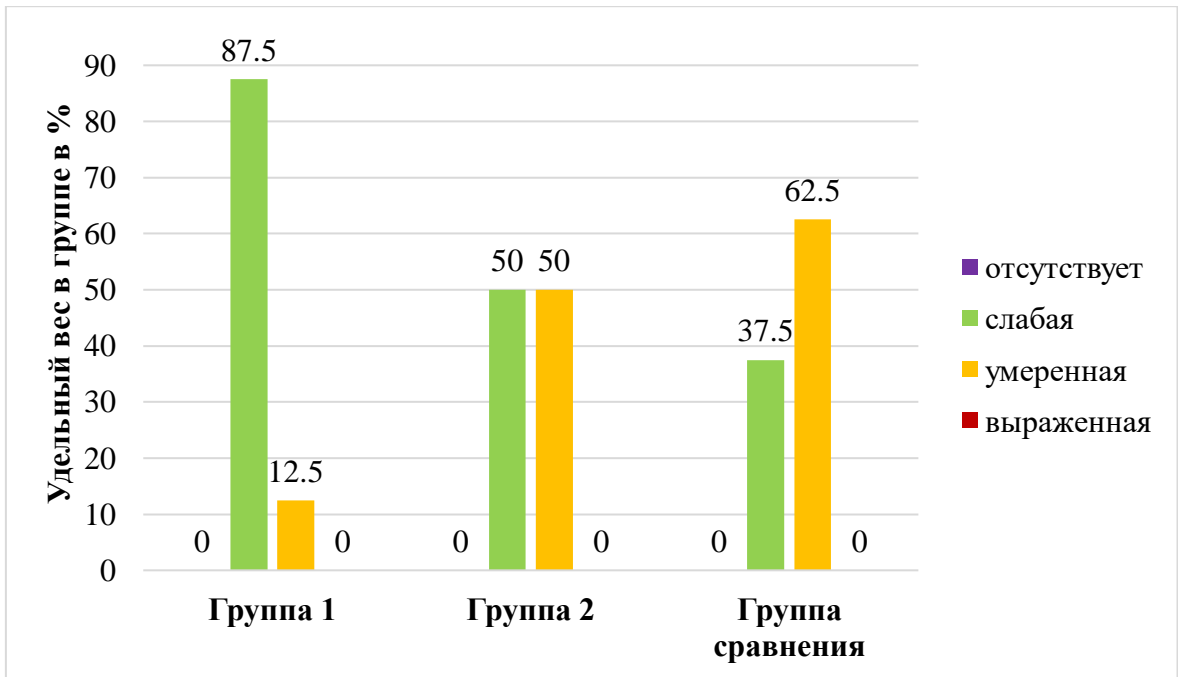


Рисунок 15 – Сравнительная частота выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных на 6 сутки после проведения оперативного вмешательства

К 10 суткам только в группе сравнения у животных определяли умеренный болевой синдром (25% кроликов). Отсутствие болевого синдрома в данной группе было зарегистрировано только у 25% животных, тогда как в группе 1 у 75% кроликов и у 50% в группе 2 болевой синдром отсутствовал.

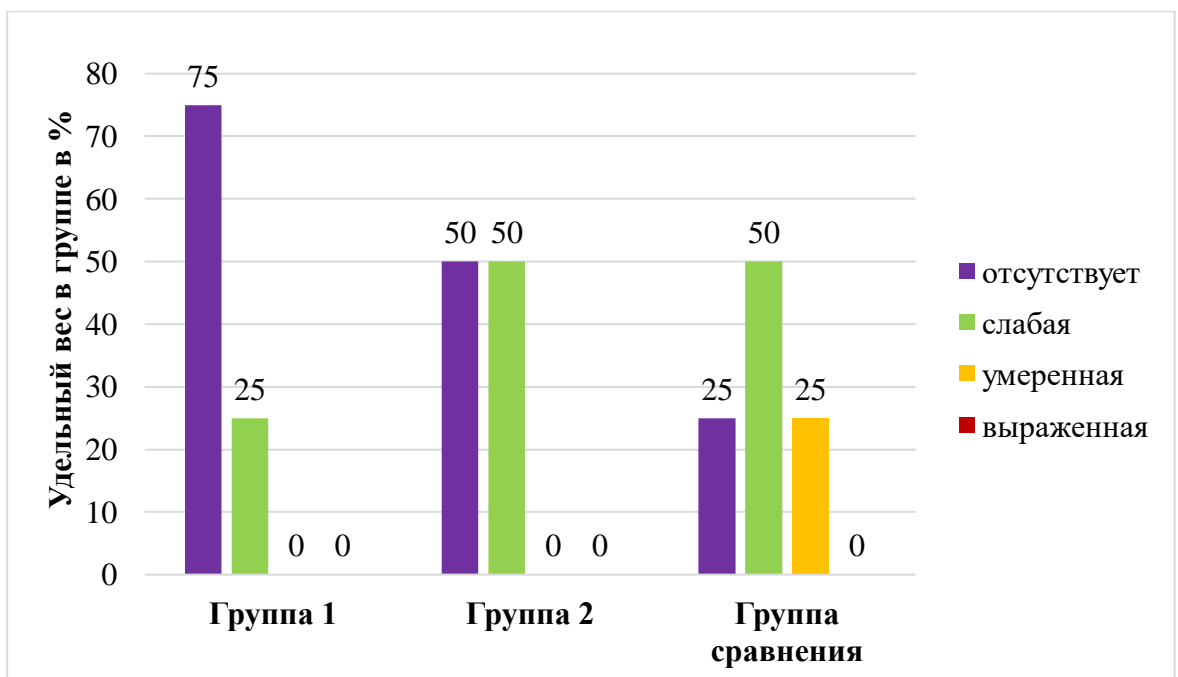


Рисунок 16 – Сравнительная частота выраженности болевого синдрома у экспериментальных животных на 10 сутки после проведения оперативного вмешательства



*Оценка степени гиперемии слизистой оболочки.*

Одним из критериев оценки течения послеоперационного периода является степень выраженности гиперемии, которую мы оценивали в баллах по 4-х бальной шкале.

К 3 суткам наблюдения развивалась максимальная степень гиперемии слизистой оболочки ( $1,83 \pm 0,17$  балла у животных группы 1,  $2,17 \pm 0,22$  балла у животных группы 2 и  $2,58 \pm 0,16$  балла у животных группы сравнения). Заметное снижение интенсивности гиперемии наблюдали на 6 сутки от проведения хирургического вмешательства (у животных группы 1 среднее значение составило  $1 \pm 0,29$  балла, у животных группы 2 –  $1,25 \pm 0,27$  балла, и  $1,5 \pm 0,2$  балла у животных группы сравнения). К 10 суткам цвет слизистой оболочки в двух исследуемых группах приходил к нормальным значениям (0 баллов при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда и  $0,5 \pm 0,29$  балла при использовании коллагеновой пленки), а при заживлении вторичным натяжением сохранялась незначительная гиперемия ( $1,25 \pm 0,29$  баллы). Средние показатели выраженности гиперемии слизистой оболочки у экспериментальных животных в динамике представлены в Таблице 4 и на Рисунке 17.

Таблица 4 — Выраженность гиперемии слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в баллах)

	Выраженность гиперемии (M±m)		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1	$1,83 \pm 0,17$	$1 \pm 0,29$	0
Группа 2	$2,17 \pm 0,22$	$1,25 \pm 0,27$	$0,5 \pm 0,29$
Группа сравнения	$2,58 \pm 0,16$	$1,5 \pm 0,2$	$1,25 \pm 0,29$
Достоверность различия результатов	$h=7,69707$ $p=0,02131$ $p < 0,05$	$h=1,97143$ $p=0,37317$ $p > 0,05$	$h=8,2625$ $p=0,01606$ $p < 0,05$

Примечание: различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$

Показатели Таблицы 4 отражают статистическую достоверность различия средних значений выраженности гиперемии слизистой оболочки между животными групп исследования и группы сравнения на 3 и 10 сутки наблюдения

( $p \leq 0,05$ ). Средние значения данного признака на 6 сутки являются схожими и не имеют достоверных различий между собой.

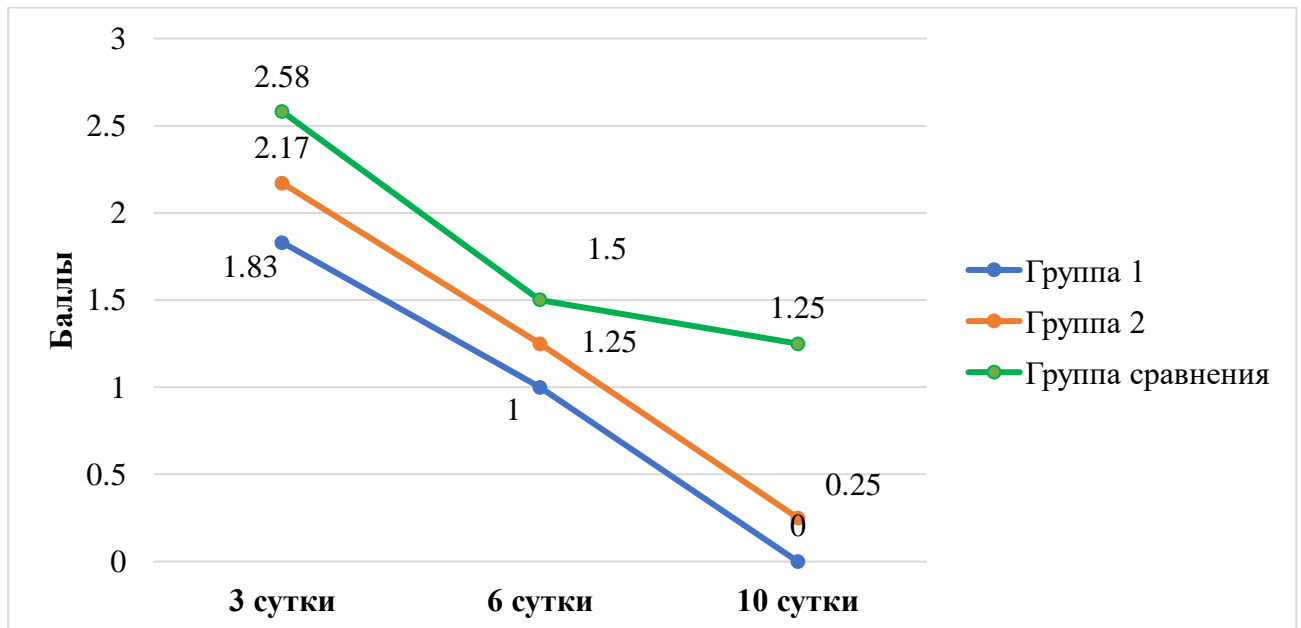


Рисунок 17 – Динамика выраженности гиперемии слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

С целью определения реакции слизистой оболочки на проведенное вмешательство и материал, используемый для закрытия раневой поверхности, был проведен анализ выраженности интенсивности гиперемии слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных внутри каждой из исследуемых групп и групп между собой. Для этого в каждой из групп определяли процент животных, у которых фиксировали разную степень гиперемии. Данные представлены в Таблице 5 и на Рисунках 18-20.

Таблица 5 – Выраженность гиперемии слизистой оболочки у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в процентах %)

	Удельный вес животных с разной степенью выраженности гиперемии		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
<b>Группа 1</b>			
бледно-розовый цвет	0	25	100
легкая	25	50	0
умеренная	66,7	25	0
яркая	8,3	0	0
Всего	100	100	100
<b>Группа 2</b>			
бледно-розовый цвет	0	12,5	75
легкая	16,7	50	25
умеренная	50	37,5	0
яркая	33,3	0	0
Всего	100	100	100
<b>Группа сравнения</b>			
бледно-розовый цвет	0	0	0
легкая	0	50	75
умеренная	41,7	50	25
яркая	58,3	0	0
Всего	100	100	100

На 3 сутки после забора СДТ показатели выраженности гиперемии слизистой оболочки между исследуемыми группами и группой сравнения имели существенные отличия. При использовании препаратов на основе коллагена для закрытия раневой поверхности уже к 3 суткам у части животных определяли лишь легкую степень гиперемии (25% в группе 1 и 16,7% в группе 2), тогда как при заживлении вторичным натяжением цвет слизистой оболочки был в пределах умеренной и яркой гиперемии (41,7% и 58,3% соответственно). Важно отметить, что при закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной из ксеноперикарда яркую гиперемию фиксировали лишь у 8,3% животных; при использовании коллагеновой пленки – у 33,3% животных.

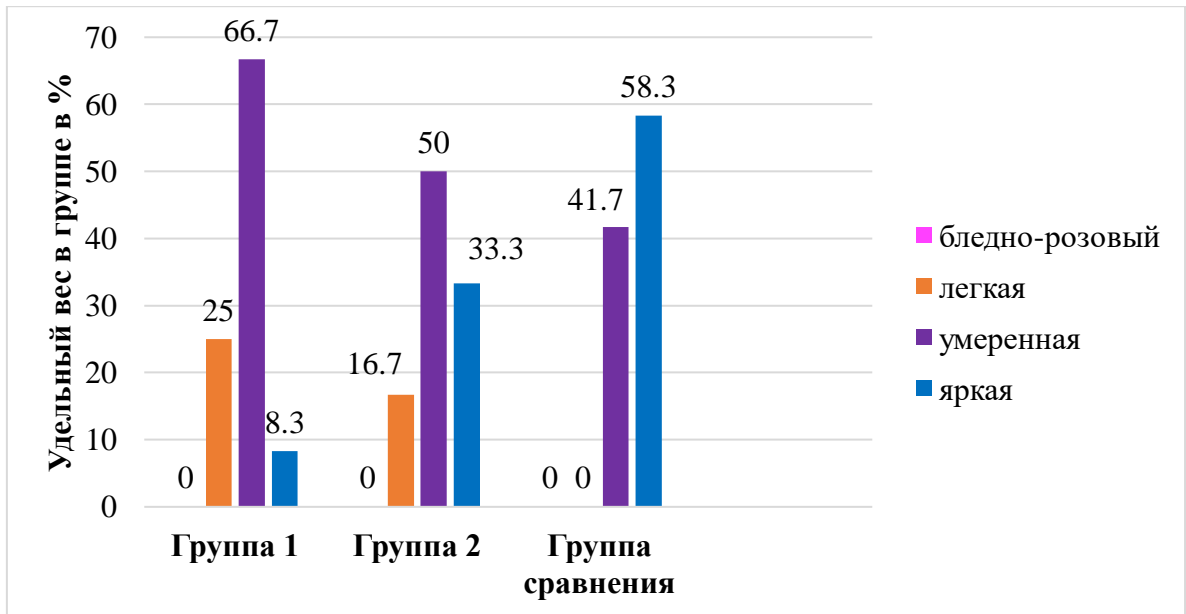


Рисунок 18 – Сравнительная частота выраженности гиперемии слизистой оболочки у экспериментальных животных на 3 сутки после проведения оперативного вмешательства

К 6 суткам у части животных в исследуемых группах цвет слизистой оболочки достигал нормальных показателей (25% при закрытии коллагеновой мембраной их ксеноперикарда и 12% при закрытии коллагеновой пленкой). Легкую степень гиперемии фиксировали у 50% животных как в группах исследования, так и в группе сравнения. Наиболее выраженную гиперемию слизистой оболочки определяли при заживлении вторичным натяжением: у 50% кроликов сохранялась умеренная гиперемия, тогда как при использовании раневых покрытий аналогичные значения регистрировали реже (25% для группы 1 и 37,5% для группы 2).

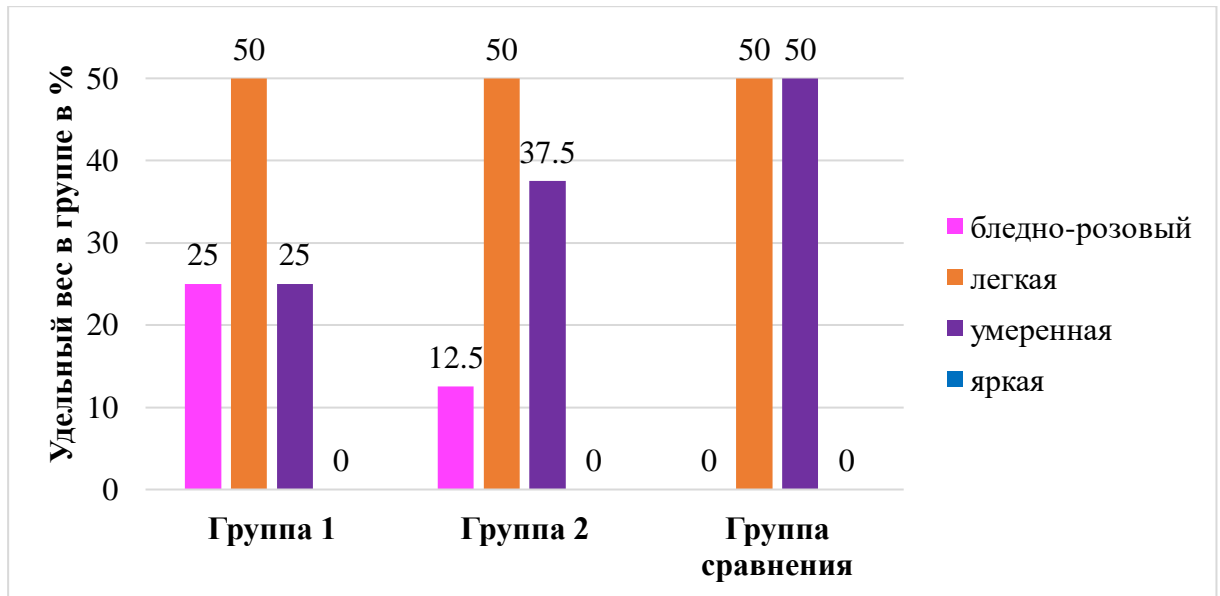


Рисунок 19 – Сравнительная частота выраженности гиперемии слизистой оболочки у экспериментальных животных на 6 сутки после проведения оперативного вмешательства

На 10 сутки наиболее благоприятную картину наблюдали у животных в группе 1, где применяли коллагеновую мембрану из ксеноперикарда: у всех животных в зоне получения СДТ цвет слизистой оболочки достигал бледно-розового цвета. В то же время при использовании коллагеновой пленки у 25% кроликов сохранялась легкая гиперемия. При заживлении вторичным натяжением отмечали наиболее неблагоприятную ситуацию: ни в одном случае не зафиксировали восстановления нормального цвета слизистой оболочки, у 75% кроликов сохранялась легкая гиперемия, а у 25% – умеренная.

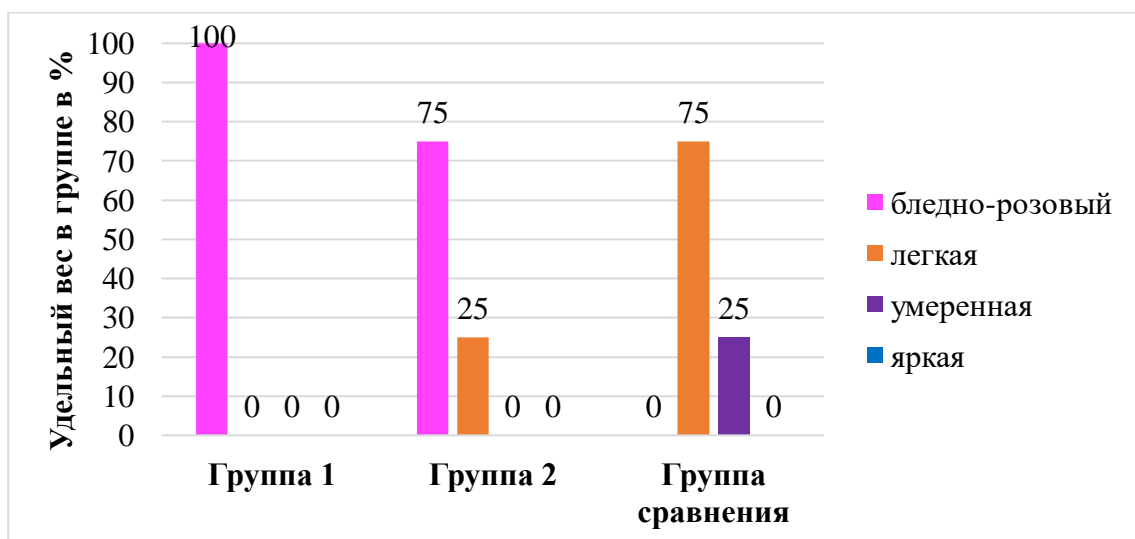


Рисунок 20 – Сравнительная частота выраженности гиперемии слизистой оболочки у экспериментальных животных на 10 сутки после проведения оперативного вмешательства

*Оценка степени выраженности отека.*

У всех животных, включенных в исследование, при проведении контрольных осмотров оценивали также и степень выраженности отека слизистой оболочки твердого неба в зоне забора СДТ. Данный показатель также оценивали в балльной системе по шкале из 4 единиц. Данные представлены в Таблице 6 и на Рисунке 21.

Таблица 6 — Выраженность отека слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в баллах)

	Выраженность отека (M±m)		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1	1,92±0,24	0,75±0,27	0
Группа 2	2,17±0,17	0,88±0,24	0
Группа сравнения	2,67±0,15	1,63±0,28	0,5±0,33
Достоверность различия результатов	h=7,10777 p=0,02861 p<0,05	h=5,69541 p=0,05798 p>0,05	h=4,4 p=0,1108 p>0,05

Примечание: различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$

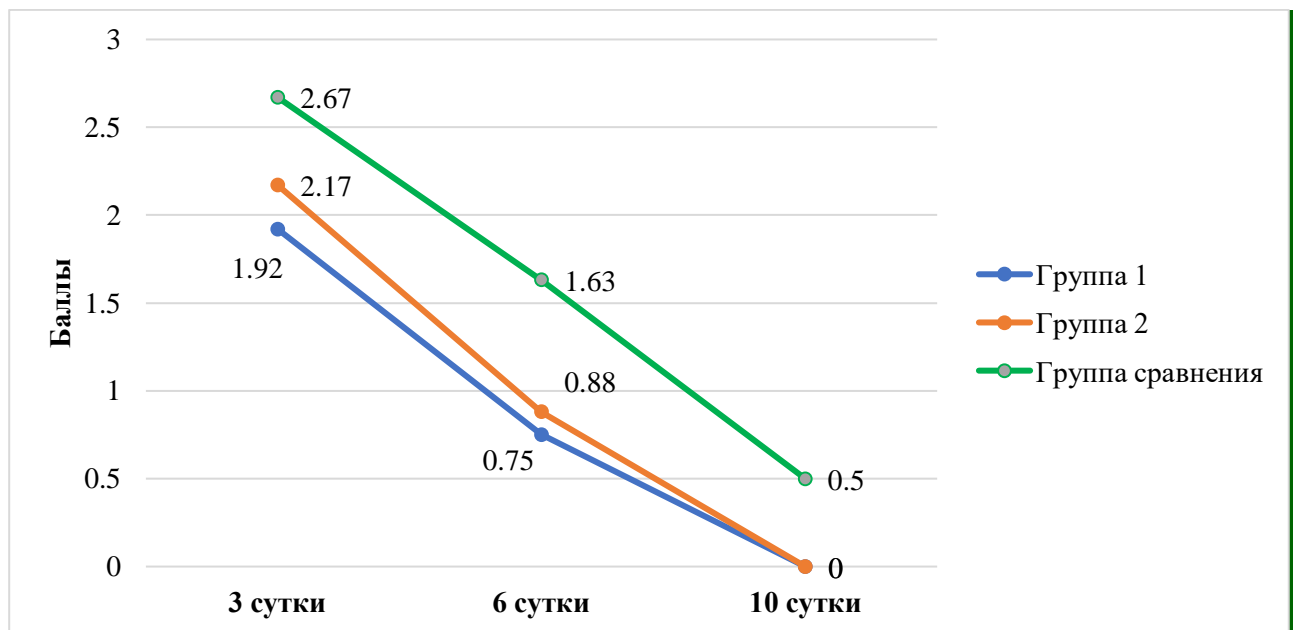


Рисунок 21 – Динамика выраженности отека слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

Согласно данным, представленным в Таблице 6 и на Рисунке 21, наиболее интенсивные показатели отека мягких тканей в области получения СДТ наблюдали на 3 сутки послеоперационного периода. Наименьшая выраженность отека была

зафиксирована при закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной из ксеноперикарда ( $1,92 \pm 0,24$  балла), более выраженный отек формировался при использовании коллагеновой пленки ( $2,17 \pm 0,17$  балла). Наибольшие средние значения были отмечены при вторичном заживлении раневой поверхности ( $2,67 \pm 0,15$  балла). К 6 суткам показатели выраженности отека у животных двух исследуемых групп продолжают снижаться и остаются достаточно близкими ( $0,75 \pm 0,27$  и  $0,88 \pm 0,24$  балла соответственно), при этом в группе сравнения показатели коллатерального отека остаются в пределах умеренно выраженных значений ( $1,63 \pm 0,28$  балла). На 10 сутки послеоперационного наблюдения показатели отека падали до нулевых значений в исследуемых группах, а в группе сравнения показатели отека в средних цифрах достигали  $0,5 \pm 0,33$  балла.

Представленные в Таблице 6 и на Рисунке 21 показатели указывают на то, что средние значения выраженности отека во всех группах на 3 сутки после начала экспериментального исследования имеют статистическую значимость: в исследуемых группах интенсивность послеоперационного отека достоверно ниже ( $p \leq 0,05$ ). Однако средние значения выраженности отека в обеих исследуемых группах на 6 и 10 сутки наблюдения являются практически идентичными и не имеют достоверных различий между собой.

Для подробного изучения изменения выраженности отека слизистой оболочки твердого неба у кроликов был проведен анализ структуры его выраженности внутри каждой из исследуемых групп и групп между собой. Для этого в каждой из групп определяли долю животных, у которых развивался отек разной степени. Данные представлены в Таблице 7 и на Рисунках 22-24.

Таблица 7 – Выраженность отека слизистой оболочки у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в процентах %)

	Удельный вес животных с разной степенью выраженности отека		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1			
отсутствует	0	37,5	100
незначительный	33,3	50	0
умеренно выраженный	41,7	12,5	0
выраженный	25	0	0
Всего	100	100	100
Группа 2			
отсутствует	0	25	100
незначительный	8,3	62,5	0
умеренно выраженный	66,7	12,5	0
выраженный	25	0	0
Всего	100	100	100
Группа сравнения			
отсутствует	0	0	50
незначительный	0	50	50
умеренно выраженный	33,3	37,5	0
выраженный	66,7	12,5	0
Всего	100	100	100

При сравнении долевой структуры выраженности послеоперационного отека между изучаемыми группами было отмечено, что на 3 сутки после получения СДТ определяется значительная разница по распределению животных. При закрытии донорской зоны коллагеновой мембраной из ксеноперикарда у 33,3% кроликов фиксировали незначительных отек тканей, в 41,7% умеренно выраженный и у 25% выраженный. При использовании коллагеновой пленки долевая структура показателей выраженности отека носила несколько иной характер: более чем у половины животных определяли умеренно выраженный отек (66,7%), тогда как незначительный отек регистрировали лишь в 8,3% случаев. Наименее благоприятная картина была зарегистрирована в группе сравнения, где показатели



интенсивности отека демонстрировали умеренно выраженные и выраженные значения (33,3% и 66,7% соответственно).

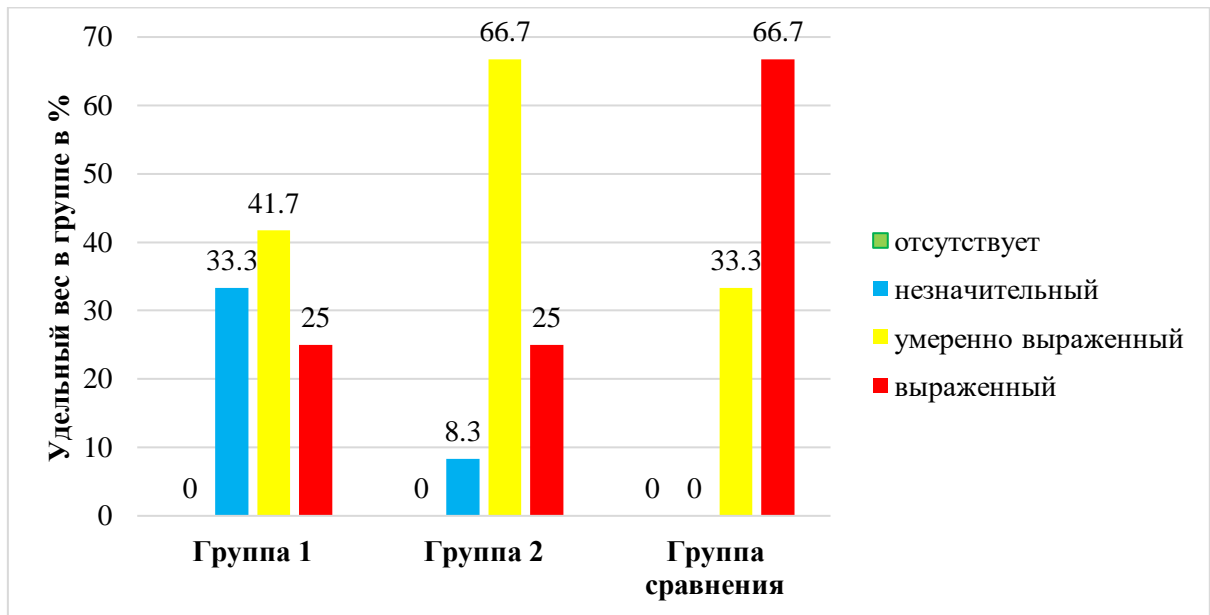


Рисунок 22 – Сравнительная частота выраженности отека слизистой оболочки у экспериментальных животных на 3 сутки после проведения оперативного вмешательства

На 6 сутки после оперативного вмешательства структура показателей выраженности отека в двух исследуемых группах была достаточно схожей как по числовым значениям, так и по соотношению их долей между собой. Отсутствием отека характеризовались 37,5% животных в 1 группе и 25% животных во 2 группе, незначительный отек отмечали в 50% и 62,5% случаев соответственно, а умеренно выраженный отек в обеих исследуемых группах – у 12,5%. В группе сравнения преобладала доля животных с незначительным отеком слизистой оболочки (50%), однако у другой половины животных определяли умеренно выраженный отек (37,5%) и выраженный отек (12,5%).

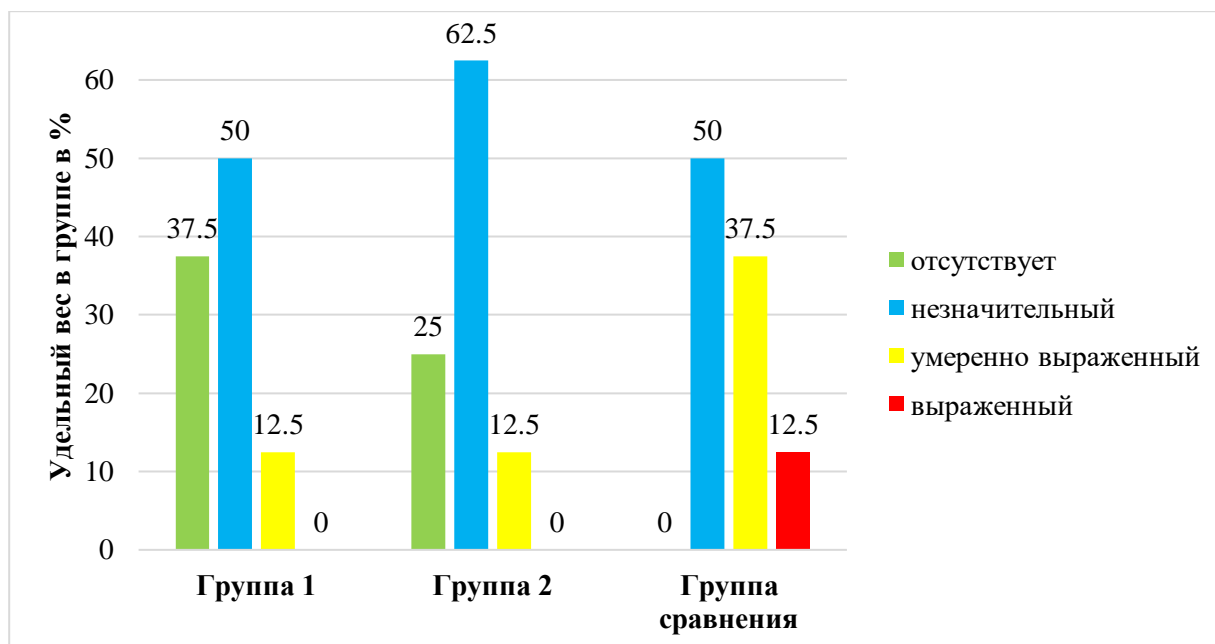


Рисунок 23 – Сравнительная частота выраженности отека слизистой оболочки у экспериментальных животных на 6 сутки после проведения оперативного вмешательства

10 сутки наблюдения характеризовались полным исчезновением отека слизистой оболочки твердого неба в обеих исследуемых группах. В группе сравнения отмечали положительную динамику течения раневого процесса и снижение выраженности коллатерального отека, однако у 50% животных было зарегистрировано сохранение отека тканей в пределах незначительных показателей.

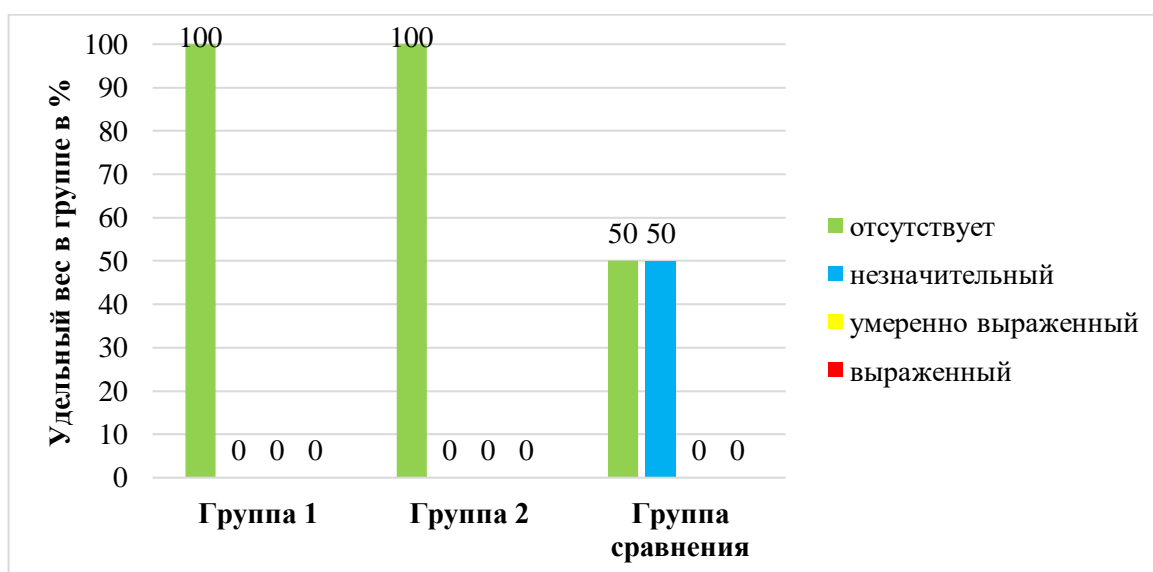


Рисунок 24 – Сравнительная частота выраженности отека слизистой оболочки у экспериментальных животных на 10 сутки после проведения оперативного вмешательства

### Оценка кровотоочивости тканей.

Немаловажным параметром, характеризующим течение процесса заживления открытой раны, является кровотоочивость раневой поверхности. При помощи зонда мы оценивали кровотоочивость слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани в зоне забора СДТ. Данный показатель оценивали по шкале из 3 баллов. Средние показатели кровотоочивости тканей донорской зоны у животных исследуемых групп в динамике представлены в Таблице 8 и на Рисунке 25.

Таблица 8 — Кровотоочивость слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в баллах)

	Выраженность кровотоочивости (M±m)		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1	1±0,18	0,38±0,2	0
Группа 2	1,08±0,2	0,5±0,2	0
Группа сравнения	1,67±0,15	1,63±0,2	0,75±0,29
Достоверность различия результатов	h=7,7784 p=0,02046 p<0,05	h=12,50445 p=0,00193 p<0,05	h=7,3333 p=0,02556 p<0,05

Примечание: различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$

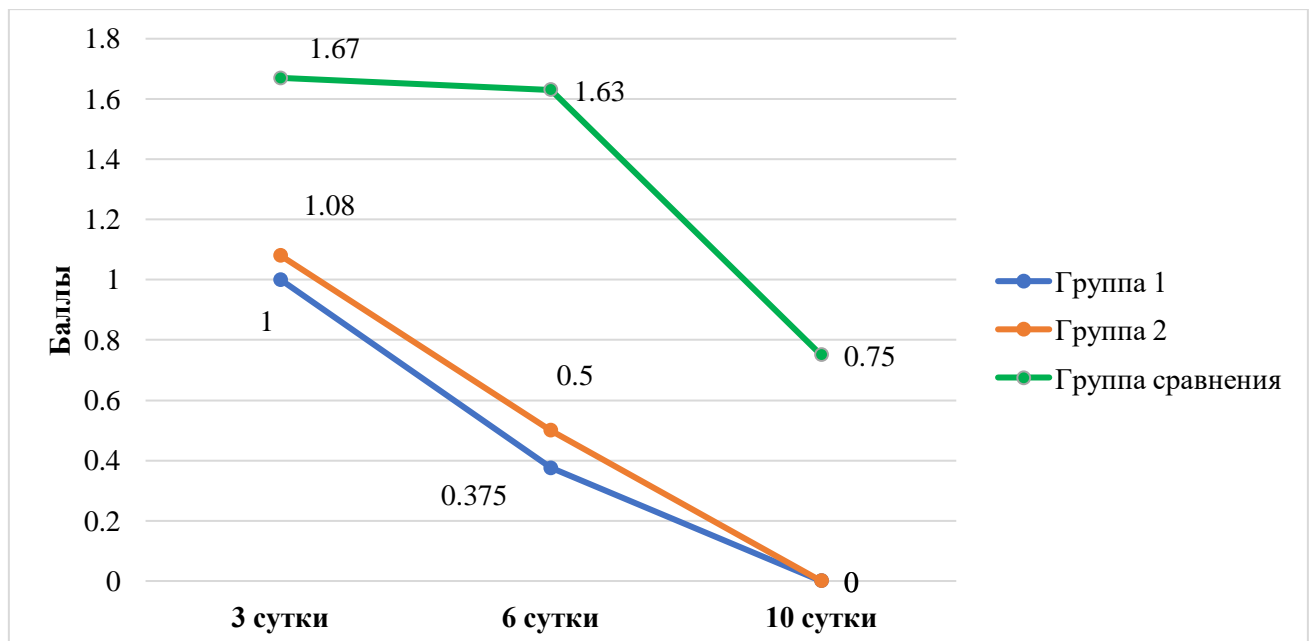


Рисунок 25 – Динамика кровотоочивости слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

Данные Таблицы 8 и Рисунка 25 отображают, что средние значения кровотоочивости тканей донорской зоны в баллах на 3, 6 и 10 сутки наблюдения у животных 1 и 2 группы являются достаточно близкими между собой. Так, на 3 послеоперационные сутки при закрытии донорской зоны коллагеновой мембраной из ксеноперикарда средний показатель кровотоочивости составил  $1\pm 0,18$  балла, а при использовании коллагеновой пленки –  $1,08\pm 0,2$  балла. К 6 суткам средние показатели кровотоочивости тканей в обеих группах исследования снижались и имели близкие значения ( $0,38\pm 0,2$  балла и  $0,5\pm 0,2$  балла), а к 10 суткам кровотоочивость отсутствовала у всех экспериментальных животных. В группе сравнения при этом отмечается более негативная тенденция: на 3 и 6 сутки послеоперационного периода средние значения составили  $1,67\pm 0,15$  балла и  $1,63\pm 0,2$  балла соответственно. Существенные значения индекса кровотоочивости тканей сохранялись и к 10 суткам наблюдения у животных группы сравнения ( $0,75\pm 0,29$  балла).

Сравнение средних значений кровотоочивости слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани в донорской зоне показало, что более значительным и статистически достоверным ( $p\leq 0,05$ ) было снижение интенсивности кровотоочивости тканей в раннем послеоперационном периоде при использовании коллаген-содержащих препаратов для закрытия раневой поверхности.

Для углубленного изучения кровотоочивости слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани в области получения СДТ был проведен анализ структуры кровотоочивости тканей внутри каждой из исследуемых групп и групп между собой. Для этого в каждой из групп определяли процент животных, у которых регистрировали кровотоочивость тканей различной интенсивности. Данные представлены в Таблице 9 и на Рисунках 26-28.

Таблица 9 – Кровоточивость слизистой оболочки у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства (в процентах %)

	Удельный вес животных с разной степенью выраженности кровоточивости		
	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1			
отсутствует	16,7	62,5	100
при зондировании	66,7	37,5	0
спонтанная	16,7	0	0
Всего	100	100	100
Группа 2			
отсутствует	16,7	50	100
при зондировании	58,3	50	0
спонтанная	25	0	0
Всего	100	100	100
Группа сравнения			
отсутствует	0	0	25
при зондировании	33,3	37,5	75
спонтанная	66,7	62,5	0
Всего	100	100	100

Сравнение долевой структуры кровоточивости слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани на 3 сутки после хирургического вмешательства продемонстрировало практически идентичные показатели для животных 1 и 2 группы исследования. У 16,7% кроликов кровоточивость донорской зоны отсутствовала, более чем у половины животных отмечали кровоточивость только при зондировании (66,7% и 58,3% соответственно). Спонтанная кровоточивость тканей в группах исследования фиксировали менее чем у четверти обследованных животных (16,7% при закрытии донорской зоны коллагеновой мембраной из ксеноперикарда и 25% при использовании коллагеновой пленки). Структура выраженности кровоточивости тканей у животных в группе сравнения носит кардинально иной характер: у 66,7% животных регистрировали спонтанную кровоточивость тканей, и только в 33,3% случаев кровоточивость была отмечена при зондировании.

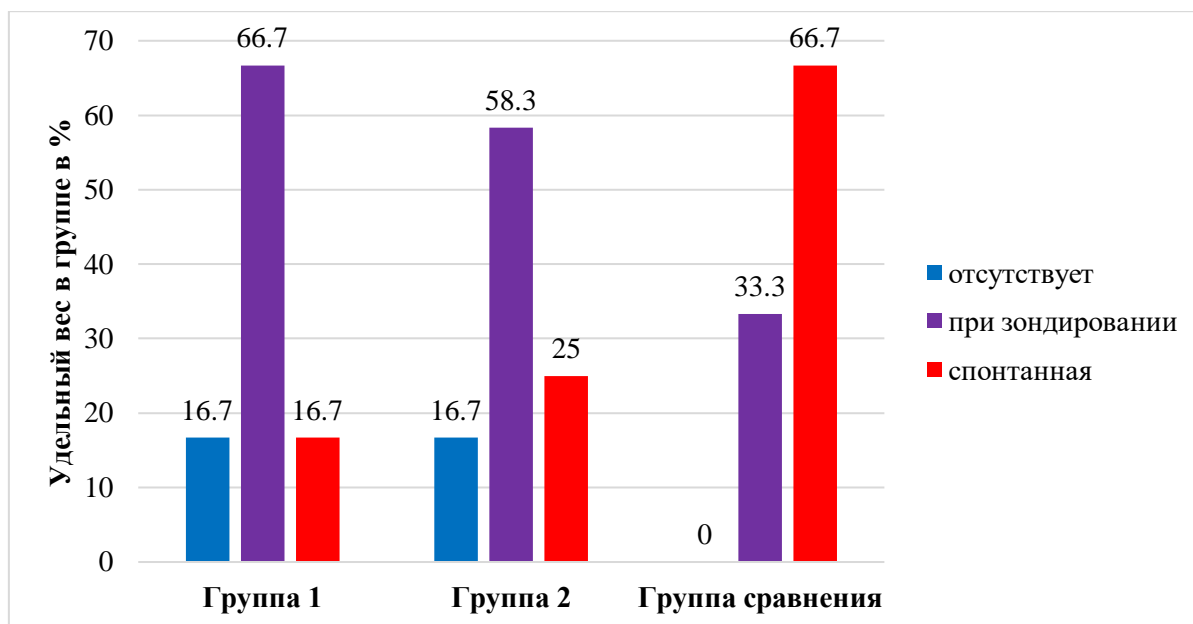


Рисунок 26 – Сравнительная частота выраженности кровоточивости слизистой оболочки у экспериментальных животных на 3 сутки после проведения оперативного вмешательства

На 6 сутки после получения СДТ в области твердого неба у животных групп исследования также были получены весьма близкие цифры: кровоточивость тканей отсутствовала у 62,5% у животных группы 1 и у 50% животных группы 2. Также отмечено снижение доли животных с кровоточивостью тканей, возникающей при зондировании (37,5% для группы 1 и 50% для группы 2). При анализе данных, полученных у животных группы сравнения, была отмечена негативная тенденция сохранения высокого процента спонтанной кровоточивости тканей (62,5%).

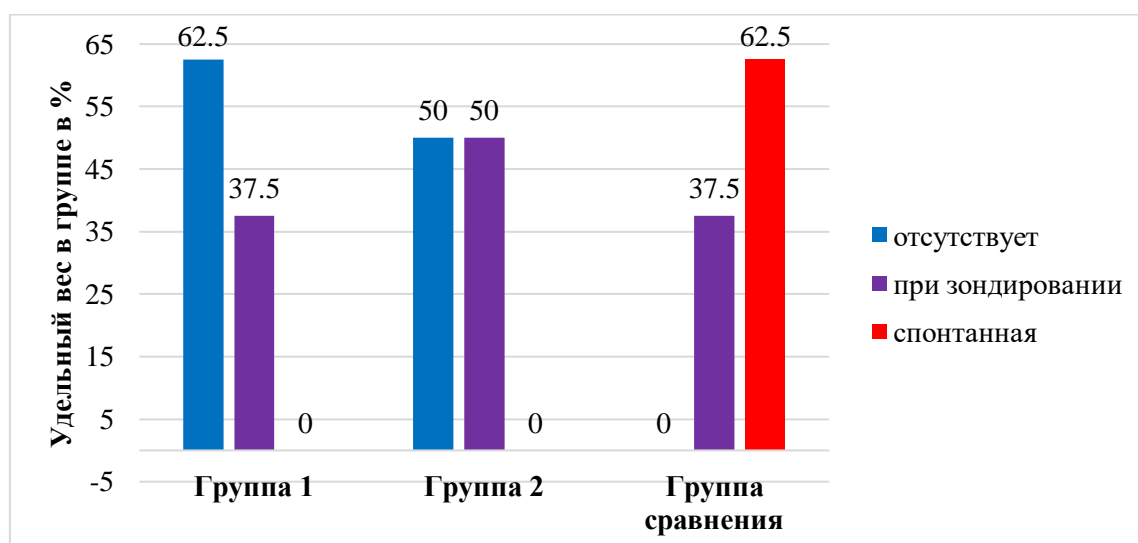


Рисунок 27 – Сравнительная частота выраженности кровоточивости слизистой оболочки у экспериментальных животных на 6 сутки после проведения оперативного вмешательства

Полное исчезновение кровоточивости тканей в исследуемых группах регистрировали на 10 сутки. При этом в группе сравнения у 75% животных сохранялась кровоточивость тканей при зондировании.

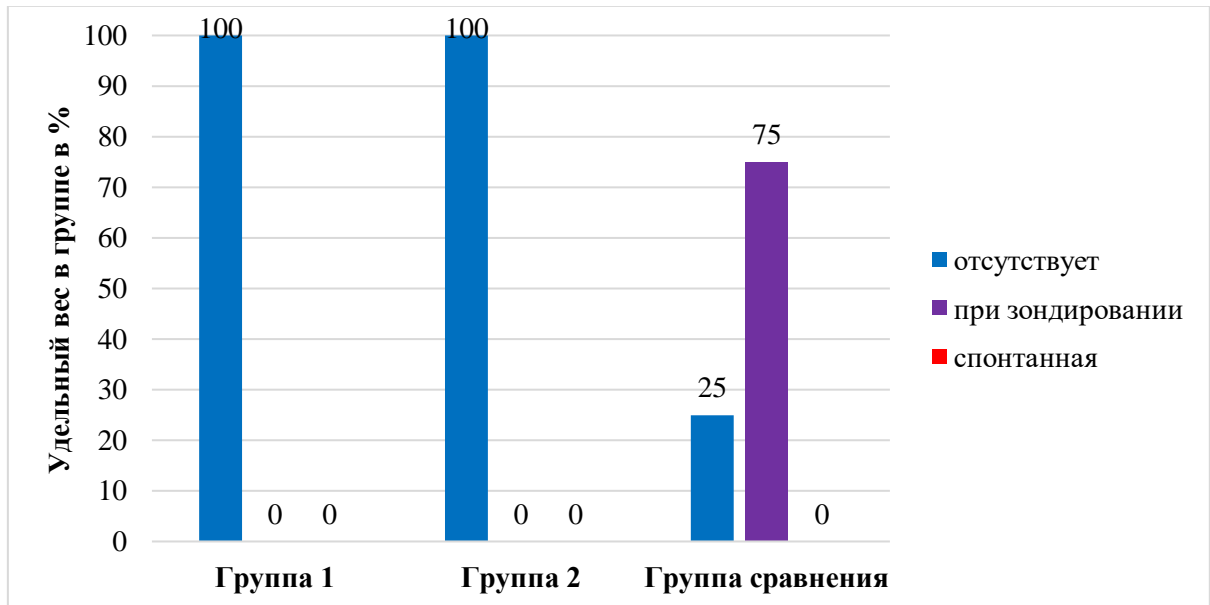


Рисунок 28 – Сравнительная частота выраженности кровоточивости слизистой оболочки у экспериментальных животных на 10 сутки после проведения оперативного вмешательства

### 3.2. Результаты гистологического метода исследования

Гистологический метод исследования при проведении данной экспериментальной работы был использован для оценки течения раневого процесса на слизистой оболочке твердого неба. На 3, 6 и 10 сутки после проведения контрольных осмотров производили забор биоптата слизистой оболочки из зоны созданного дефекта.

#### 3.2.1. Результаты гистологического исследования группы сравнения

На 3 сутки от начала экспериментального исследования при микроскопической оценке определяется отсутствие эпителия на поверхности раны. В области дна раны отмечается умеренная нейтрофильная, лимфо-макрофагальная



инфильтрация, отек ткани и начинающаяся пролиферация фибробластов, сочетающиеся с расстройством микроциркуляции (Рисунок 29).

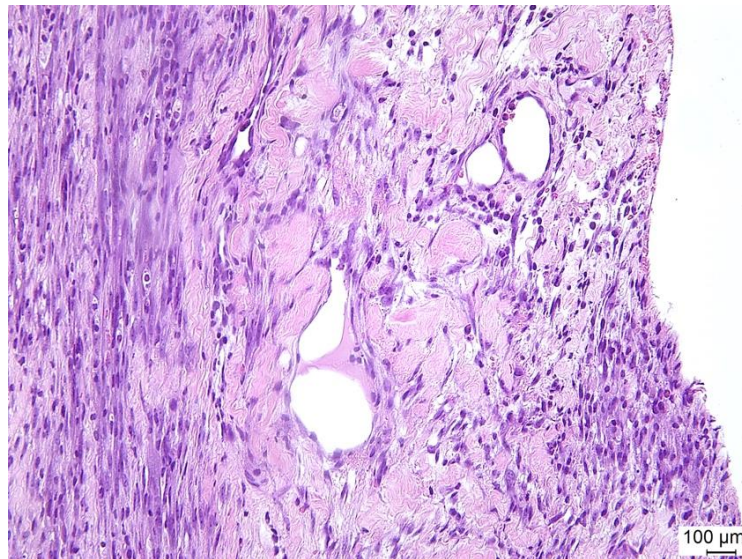


Рисунок 29 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 3 сутки после хирургического вмешательства. Ткани дна раны с отсутствием эпителия, воспалительная инфильтрация, умеренное число фибробластов. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

При фазово-контрастной микроскопии выявляются тонкие новообразованные коллагеновые волокна (Рисунок 30).

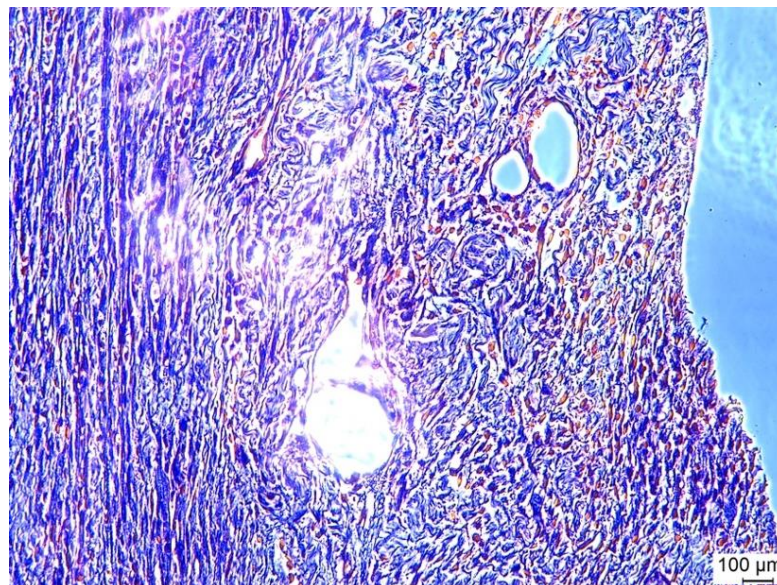


Рисунок 30 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 3 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 29. Определяются новообразованные коллагеновые волокна. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 200х



При поляризационной микроскопии большая часть коллагеновых волокон изотропна вследствие их незрелости, местами видно более зрелые анизотропные волокна. Вблизи тканевого дефекта отмечается заметная гипертрофия многослойного плоского эпителия с явлениями акантоза.

У одного животного из группы сравнения эпителизация дефекта также не отмечается, на поверхности раны обнаруживается ткань с воспалительной инфильтрацией и слабой пролиферацией фибробластов, а также полнокровие сосудов.

К 6 суткам при макроскопическом изучении квадратная рана приобрела вытянутую форму, а края раны сблизились. При гистологическом изучении было отмечено значительное сужение раневого дефекта по сравнению с препаратами предыдущего срока наблюдения. По краям раны обнаруживается пролиферация эпителия, наплывающего на ткань вокруг дефекта. На дне раны определяется грануляционная ткань с уменьшением воспалительных изменений и преобладанием фибробластов и коллагеновых волокон (Рисунок 31).

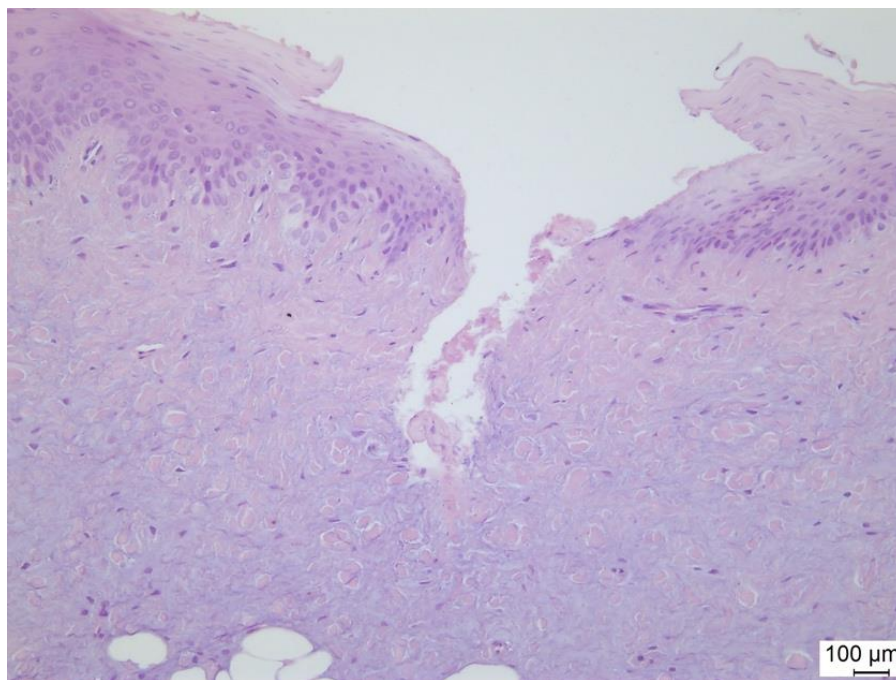


Рисунок 31 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 6 сутки после хирургического вмешательства. Проплиферация эпителия в ткани. В раневых тканях остается лимфо-макрофагальная инфильтрация. Формирование незрелой грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

При фазовом контрасте более четко визуализируются тонкие коллагеновые волокна (Рисунок 32), а при поляризационной микроскопии отмечается анизотропия коллагеновых волокон.

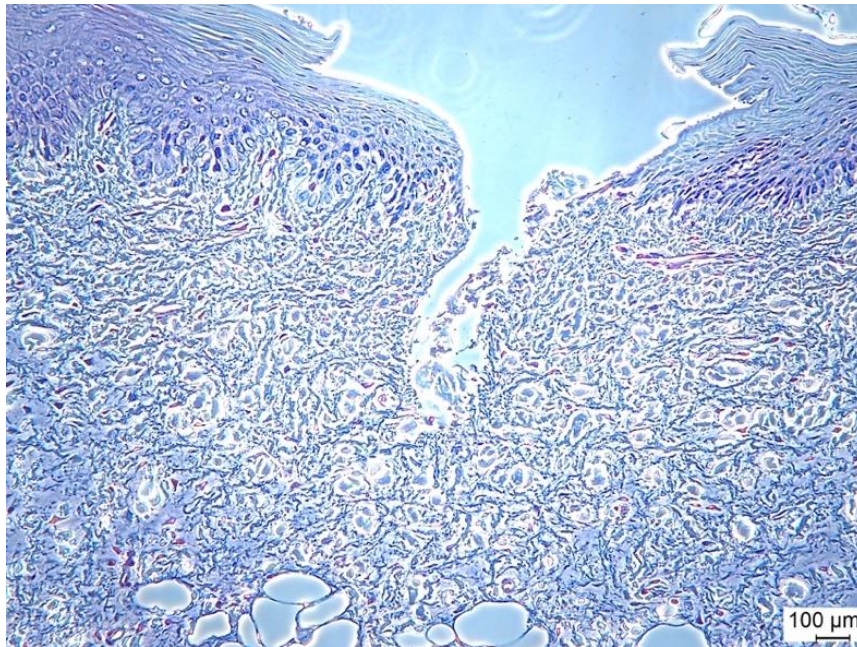


Рисунок 32 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 6 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 31. Сеть тонких коллагеновых волокон. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 200х

Через *10 суток* после забора свободного десневого трансплантата дефект эпителизирован и заполнен фиброзирующей грануляционной тканью. В грануляционно-фиброзной ткани повышена васкуляризация, часть сосудов имеет расширенный просвет (Рисунок 33). В этой ткани остается много пролиферирующих фибробластов, снижается количество макрофагов и лимфоцитов (Рисунок 34).



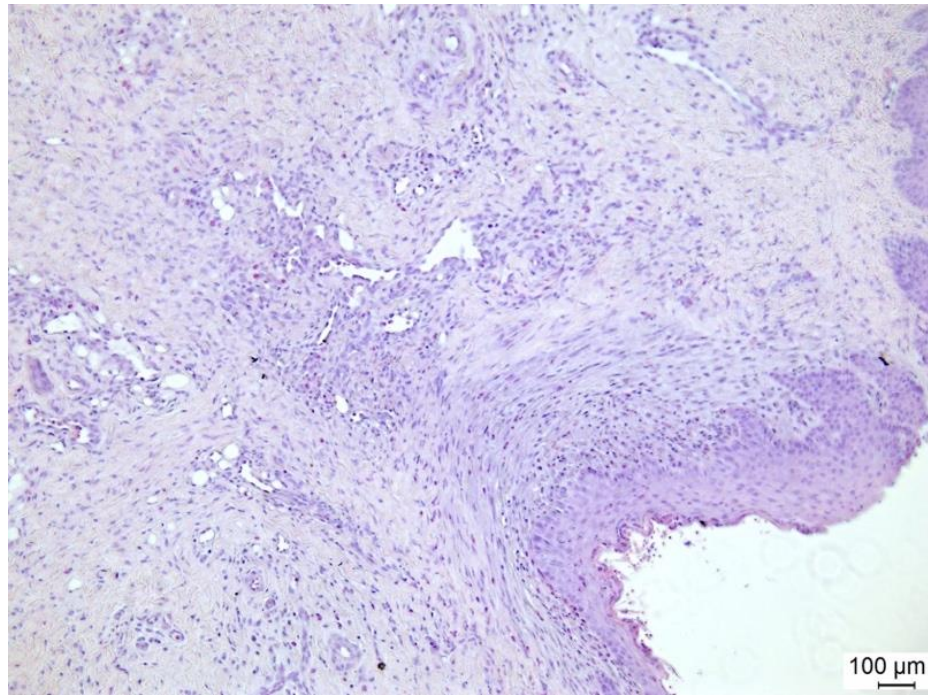


Рисунок 33 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 10 сутки после хирургического вмешательства. Эпителизация раневой поверхности, фиброзно-грануляционная ткань с расширенными сосудами. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

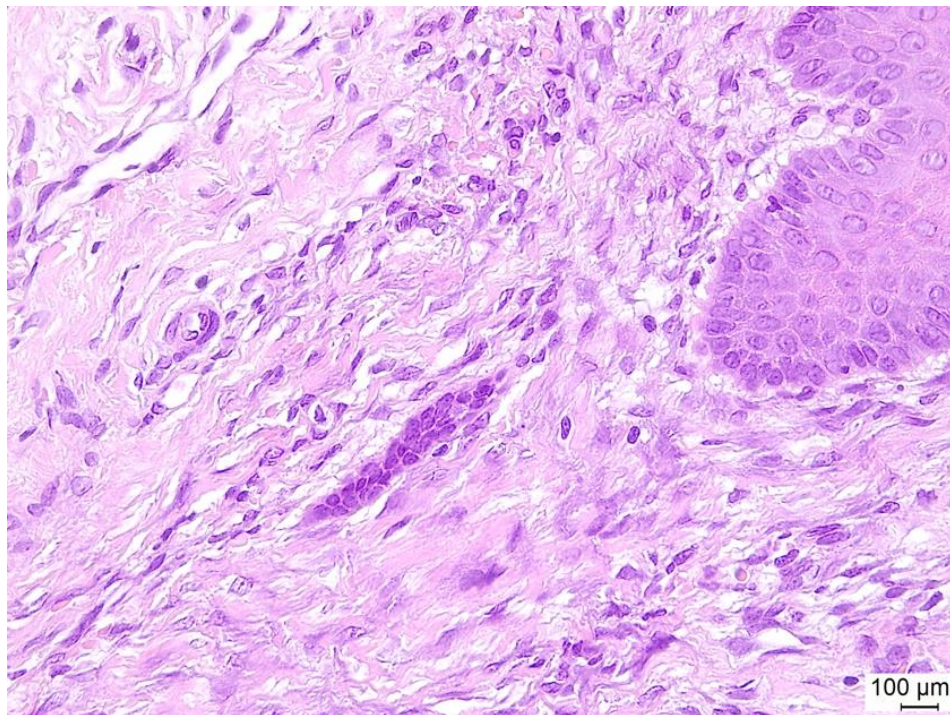


Рисунок 34 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 10 сутки после хирургического вмешательства. Тот же микропрепарат, что и на Рисунке 33. Пролиферация фибробластов, сниженная лимфо-макрофагальная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х



При проведении фазово-контрастной микроскопии выявляется коллагеновая сеть из тонких коллагеновых волокон (Рисунок 35).

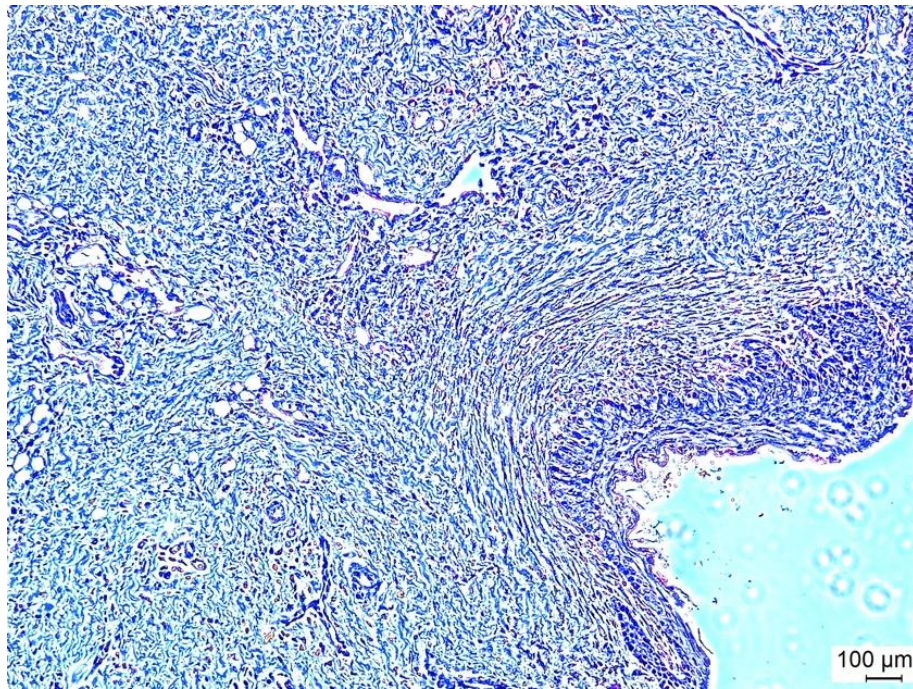


Рисунок 35 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 10 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 33. Густая сеть коллагеновых волокон. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 100х

При окраске пикросириусом красным относительно толстые коллагеновые волокна в грануляционной ткани воспринимают красный цвет (Рисунок 36).

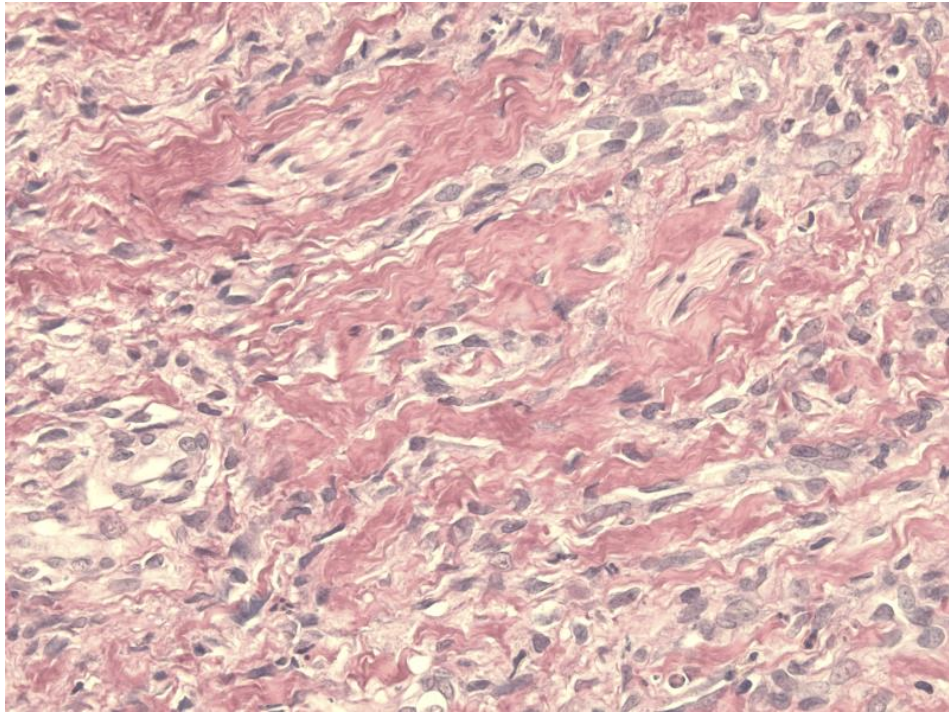


Рисунок 36 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 10 сутки после хирургического вмешательства. Участок фиброзирующей грануляционной ткани. Коллагеновые волокна окрашиваются в красный цвет. Окраска пикросириусом красным, увеличение 400х

Поляризационная микроскопия выявляет анизотропию коллагеновых волокон (Рисунок 37).

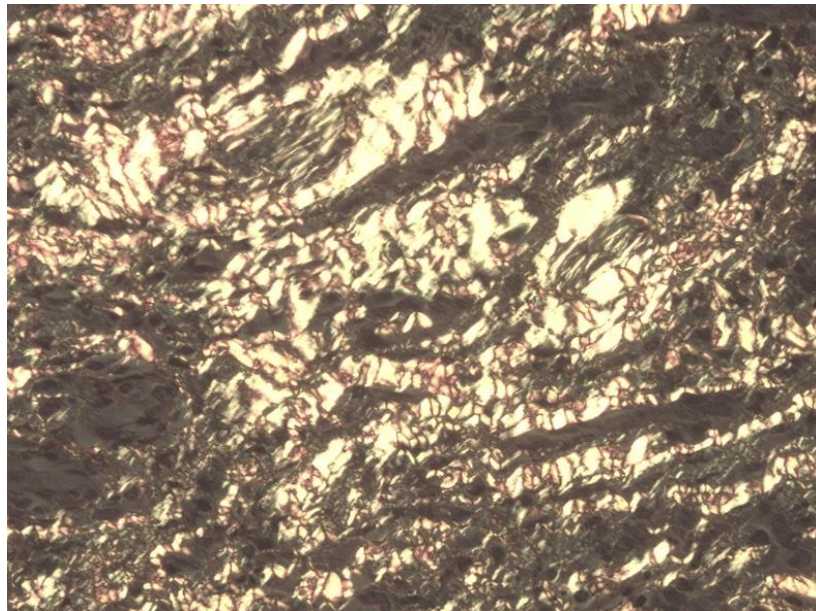


Рисунок 37 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа сравнения, 10 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 36. Выраженная анизотропия коллагеновых волокон. Окраска пикросириусом красным, поляризационная микроскопия увеличение 400х



### 3.2.2. Результаты гистологического исследования группы 1

К 3 суткам при закрытии донорской зоны на твердом небе при помощи коллагеновой мембраны из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом определяется значительное сужение раневого дефекта по сравнению с дефектами в группе сравнения. Дефект заполнен фибринозно-лейкоцитарной пробкой с преобладанием нейтрофилов, в том числе разрушенных. Следует отметить, что по краям дефекта видны пласты регенерирующего эпителия (Рисунок 38).

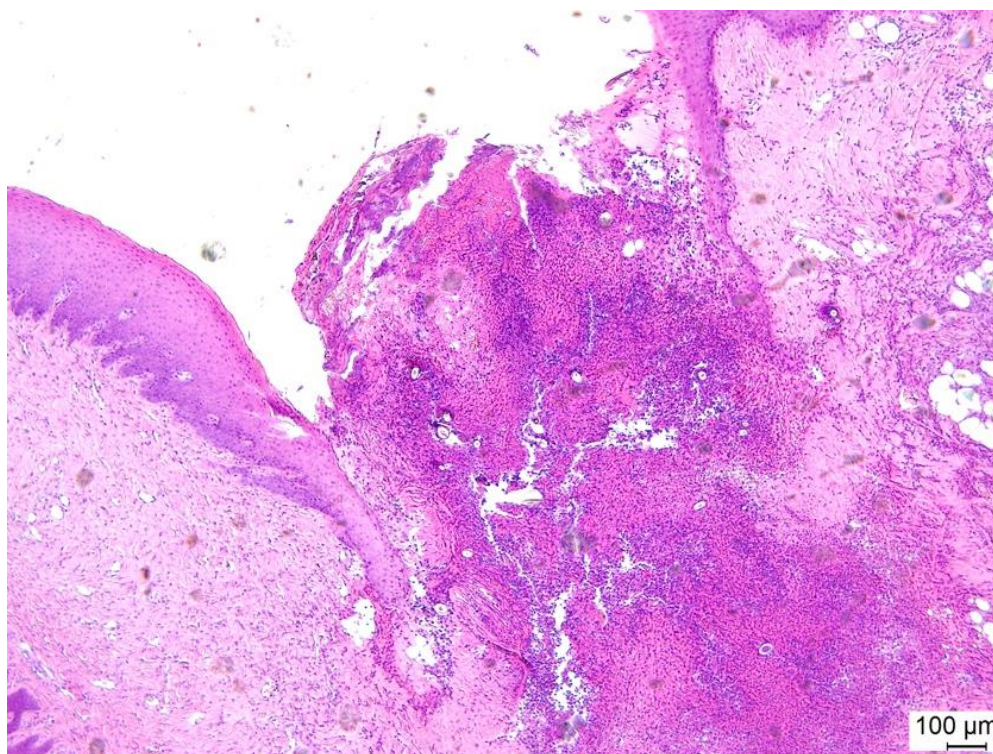


Рисунок 38 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Лейкоцитарно-фибриновая пробка, заполняющая дефект. Рост эпителиального пласта с обеих сторон. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 50х

Вокруг дефекта выявляется грануляционная ткань, между очагами которой остается жировая ткань (Рисунок 39). В грануляционной ткани на фазовом контрасте видны тонкие коллагеновые волокна.

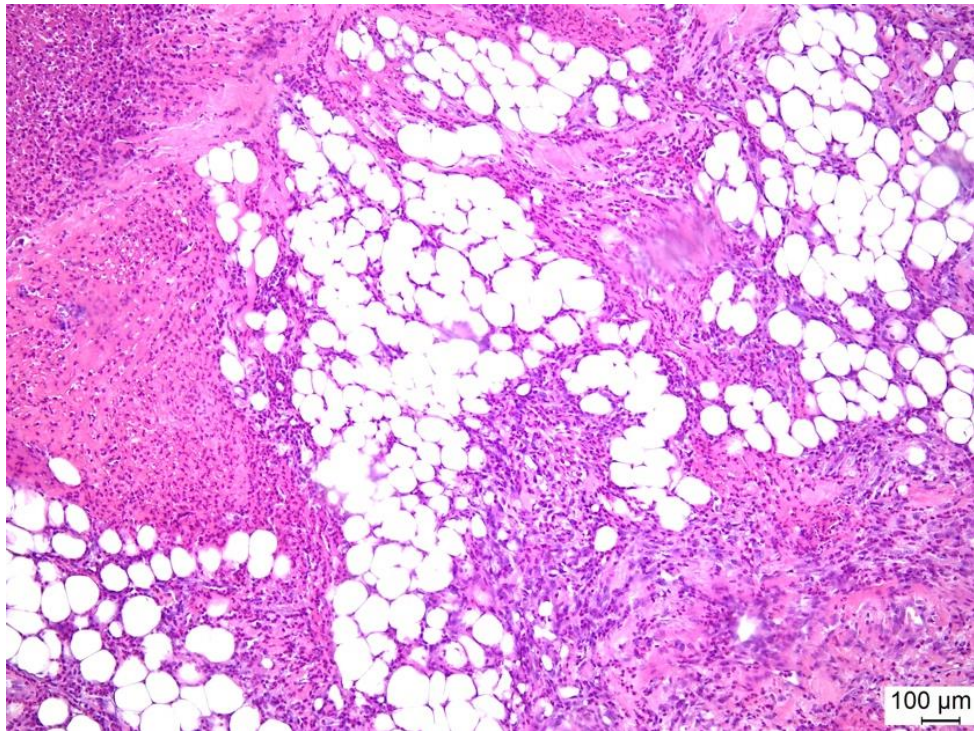


Рисунок 39 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Жировая и грануляционная ткань на дне раны. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

При окраске пикросириусом красным тонкие коллагеновые волокна не выявляются, однако более толстые хорошо окрашиваются в красный цвет (Рисунок 40).



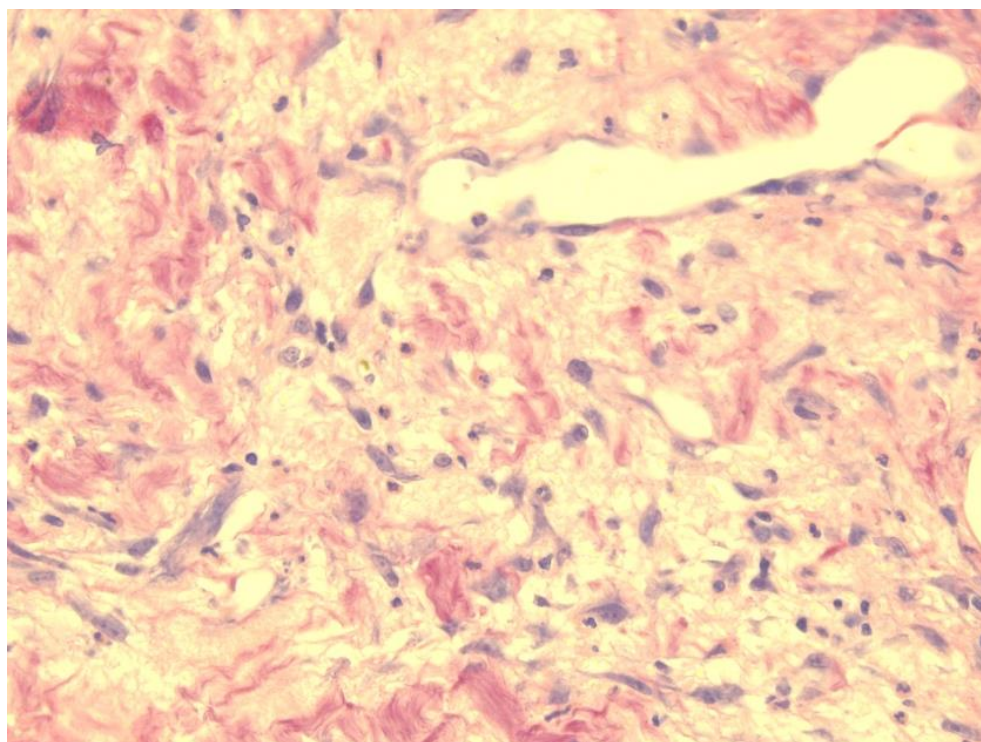


Рисунок 40 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Ткани дна раны. Коллагеновые волокна окрашиваются в красный цвет. Окраска пикросириусом красным, увеличение 400х

При поляризационной микроскопии более толстые коллагеновые волокна дают отчетливую анизотропию, а тонкие – слабую анизотропию (Рисунок 41).

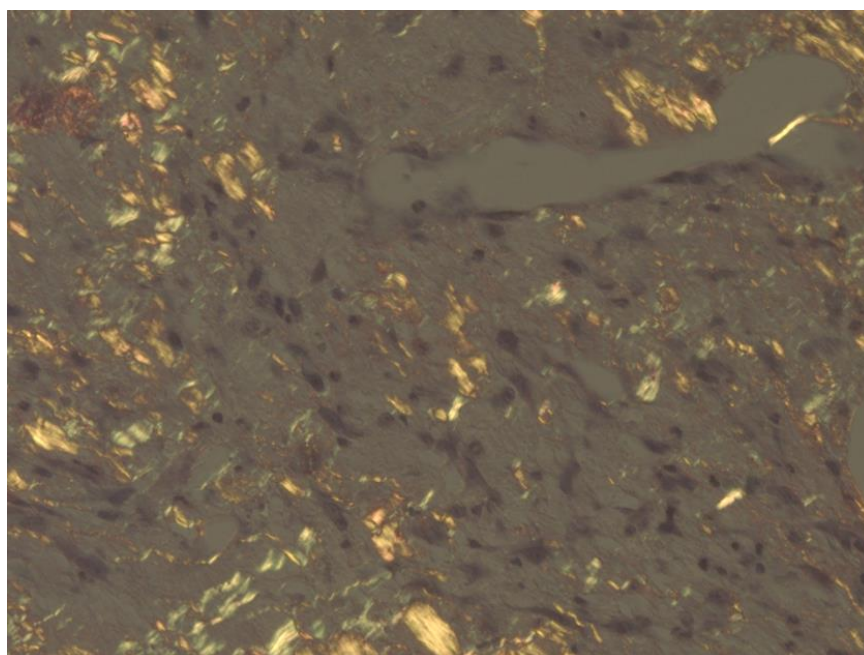


Рисунок 41 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 40. Выраженная анизотропия коллагеновых волокон в области дна раны. Окраска пикросириусом красным, поляризационная микроскопия увеличение 400х



В глубине подслизистого слоя слизистой оболочки выявляются крупные очаги округлой или продолговатой формы, которые представляют собой скопления нейтрофилов и макрофагов, среди которых располагаются отдельные достаточно толстые волокнистые структуры (Рисунок 42).

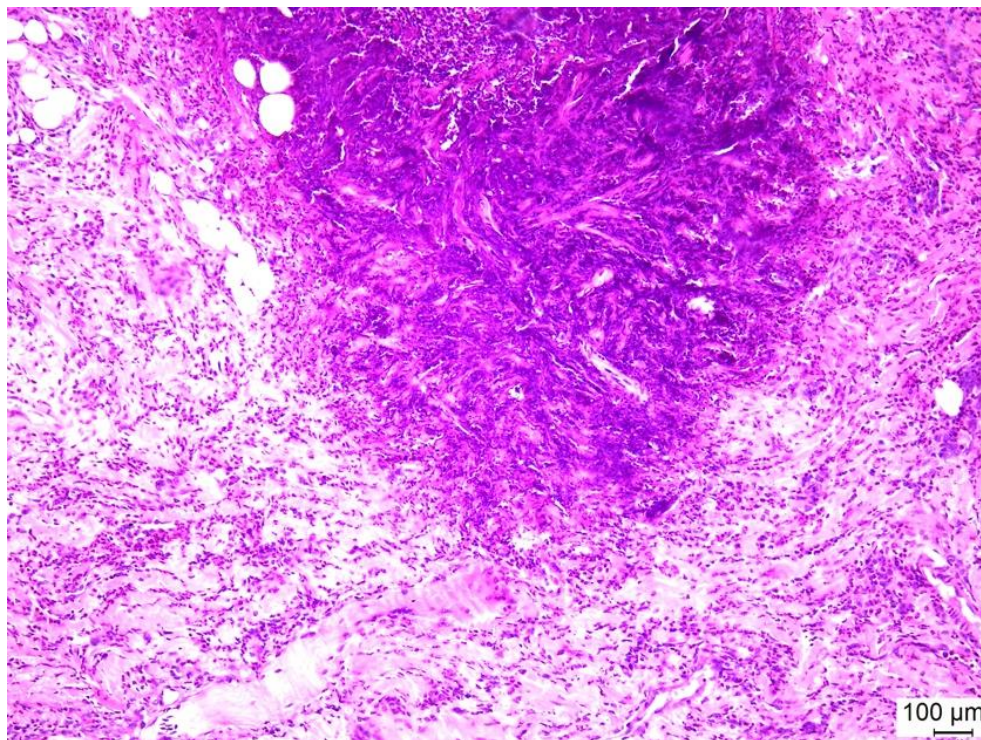


Рисунок 42 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Фрагмент имплантата в глубине грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

Вокруг таких очагов отмечается умеренная лимфо-макрофагальная реакция с примесью нейтрофилов. При фазовом контрасте в вышеописанных очагах сравнительно четко выявляются волокна. При поляризационной микроскопии волокна дают выраженную анизотропию, что указывает на их коллагеновый характер (Рисунок 43).

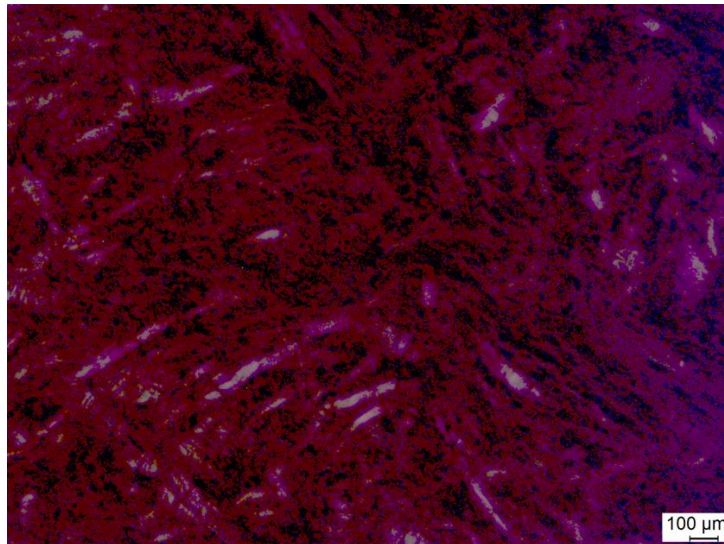


Рисунок 43 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Анизотропия коллагеновых волокон внутри фрагмента имплантата. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия, увеличение 400х

На большом увеличении отчетливо видны более светлые коллагеновые пучки без четкой структуризации, между которыми располагаются макрофаги, нейтрофильные лейкоциты и лимфоциты. В эти очаги из окружающей ткани вырастают сосуды (Рисунок 44). Описанные очаги, вероятно, являются фокусами воспалительной инфильтрации вокруг остаточных фрагментов мембраны.

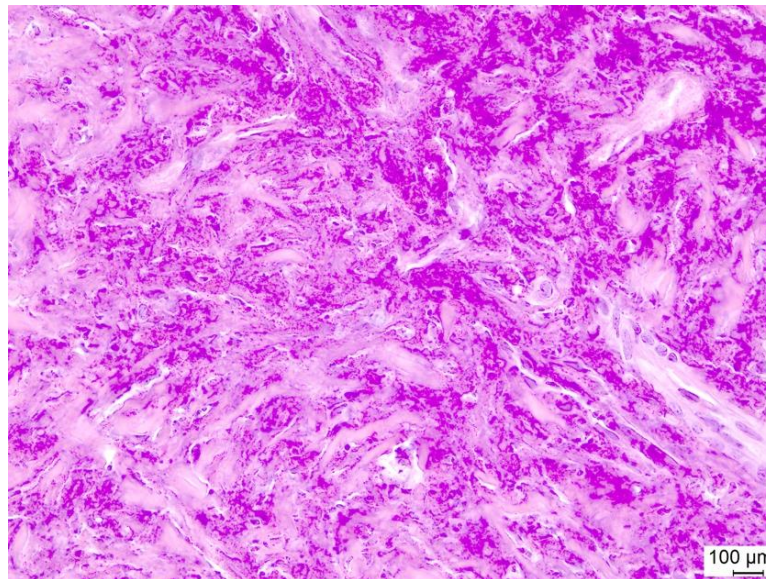


Рисунок 44 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 3 сутки после хирургического вмешательства. Вверху слева видна часть фрагмента имплантата, вокруг него – грануляционная ткань с прорастающими сосудами. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х



К 6 суткам отмечается полная эпителизация дефекта с резко выраженной гипертрофией эпителия. На месте дефекта обнаруживается рубцовая ткань, состоящая из коллагеновых волокон, плотно прилежащих друг к другу и ориентированных беспорядочно (Рисунок 45). В рубцовой ткани несколько увеличено, по сравнению с нормальной тканью твердого неба, количество сосудов. Кроме фибробластов в ткани определяются сравнительно немногочисленные макрофаги и лимфоциты. Фокусов распада матрикса и нейтрофильной инфильтрации не обнаружено.

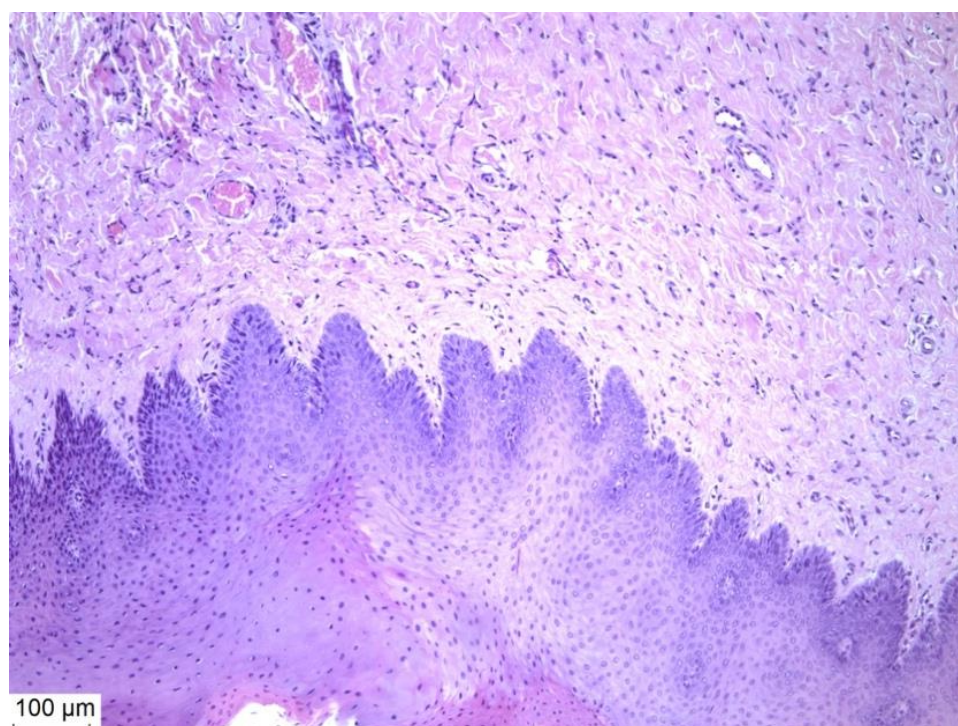


Рисунок 45 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 6 сутки после хирургического вмешательства. Выраженная гипертрофия эпителия, сравнительно зрелая рубцовая ткань. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

В одном из микропрепаратов было отмечено заполнение дефекта рубцовой тканью с более выраженной воспалительной инфильтрацией, состоящей в основном из макрофагов и лимфоцитов. Определяется большое число сосудов мелкого калибра, свидетельствующих о том, что это фиброзирующаяся грануляционная ткань (Рисунок 46).

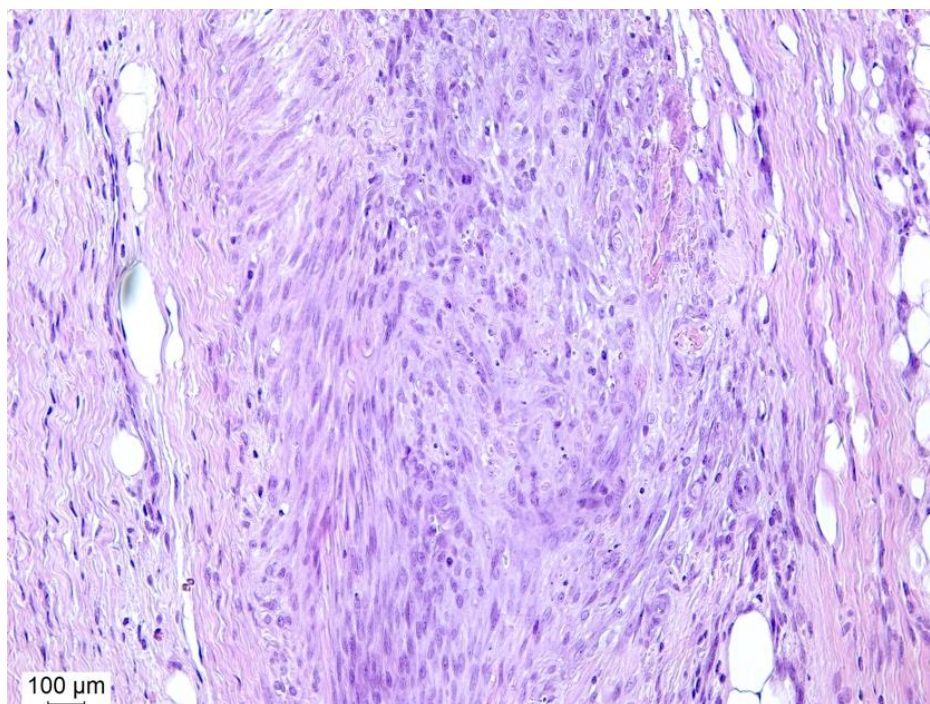


Рисунок 46 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 6 сутки после хирургического вмешательства. Переход грануляционной ткани в фиброно-грануляционную ткань. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

Поверхность покрыта гипертрофированным эпителием с явлениями акантоза. При фазово-контрастном исследовании выявляется волокнистая структура коллагеновых пучков (Рисунок 47). При поляризационной микроскопии выявляется сеть анизотропных сравнительно тонких коллагеновых волокон, переплетающихся между собой.



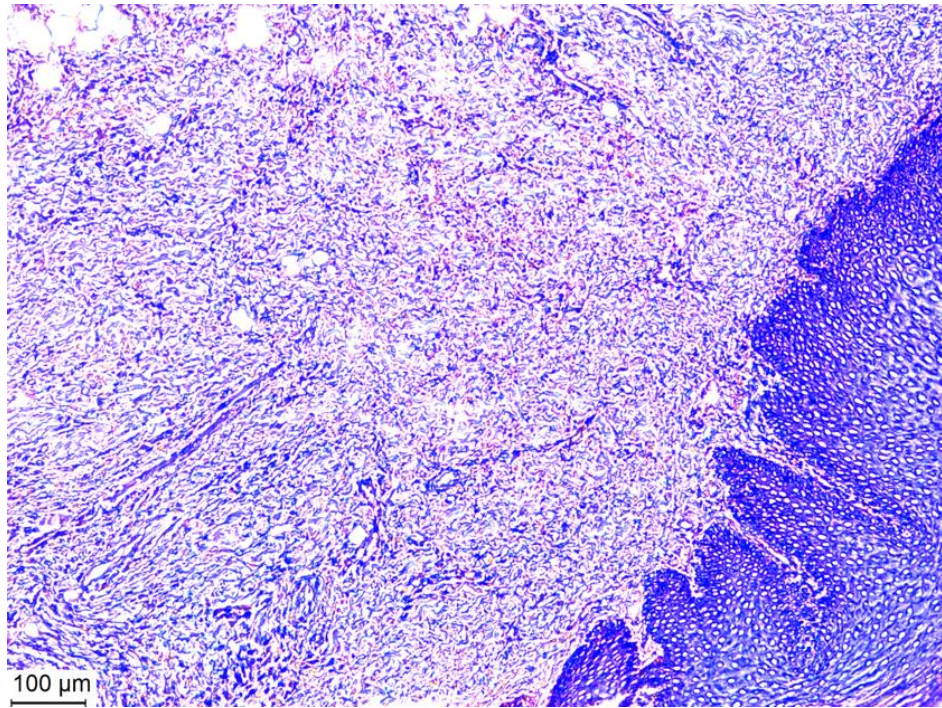


Рисунок 47 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 6 сутки после хирургического вмешательства. Тот же микропрепарат, что и на Рисунке 45. Хорошо видны сосуды и тонкие коллагеновые волокна. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 100х

К *10 суткам* после оперативного вмешательства область бывшего дефекта покрыта гипертрофированным эпителием, под которым располагается фиброзная ткань (Рисунок 48).

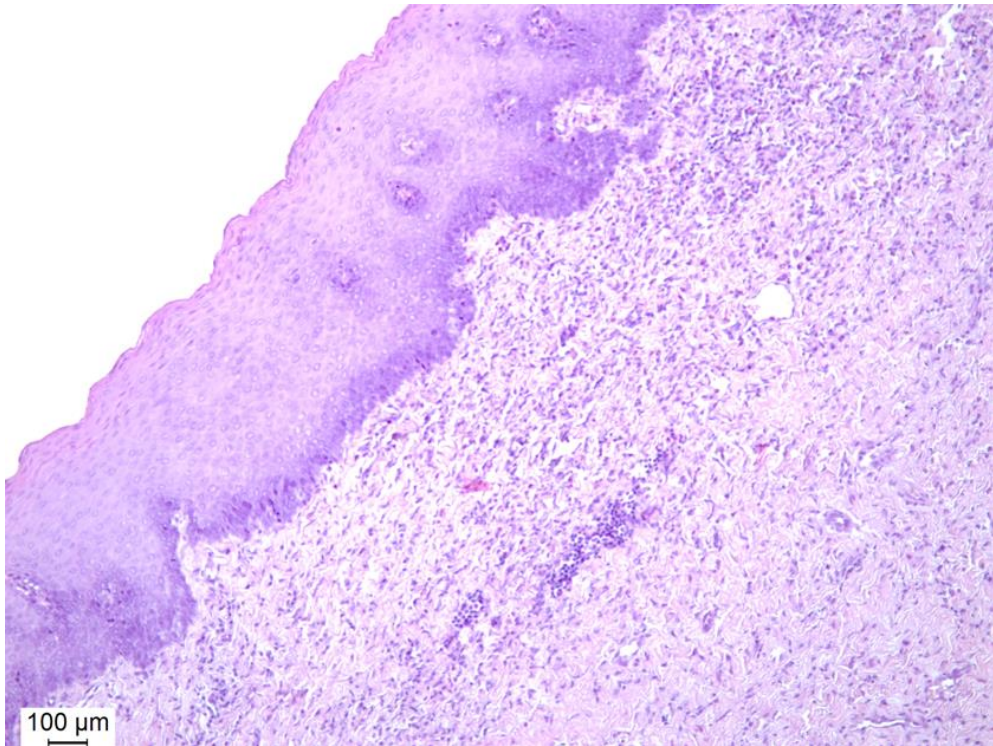


Рисунок 48 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 10 суток после хирургического вмешательства. Гипертрофия эпителия на месте бывшего дефекта. Рубцовая ткань с относительно выраженной воспалительной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

Определяется снижение лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Сосудов в ткани значительно меньше (Рисунок 49).



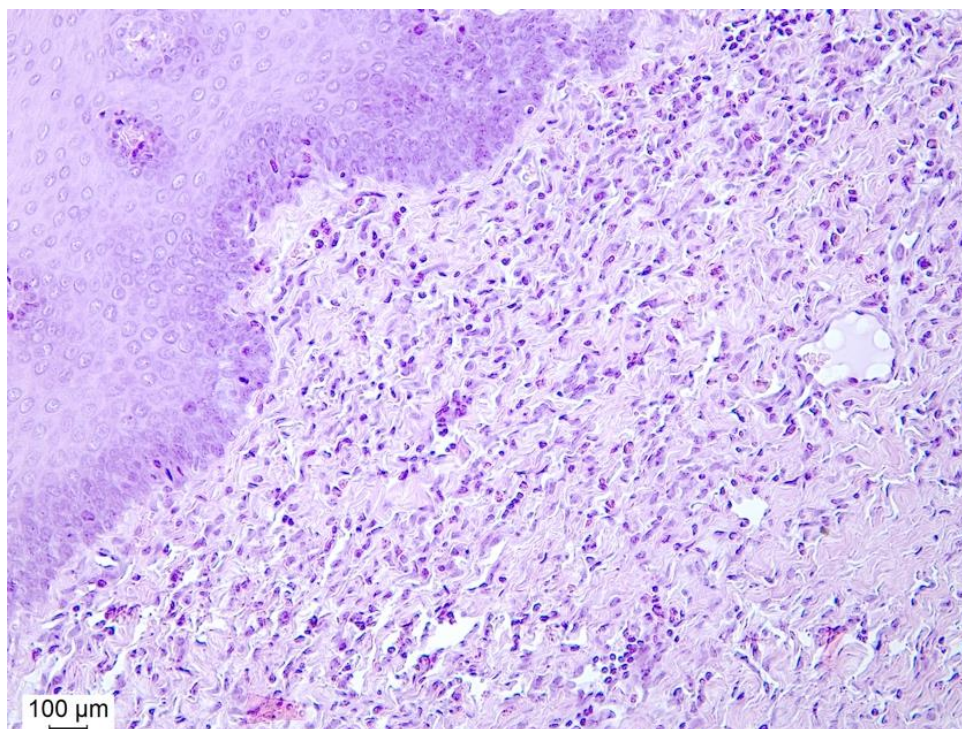


Рисунок 49 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 10 суток после хирургического вмешательства. Тот же микропрепарат, что и на Рисунке 48. Плотная фиброзная ткань с умеренной лимфо-макрофагальной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

При поляризационной микроскопии коллагеновые волокна рубцовой ткани дают анизотропию, причем отчетливо видна разнонаправленность коллагеновых волокон (Рисунок 50). При фазово-контрастной микроскопии четко видна волокнистость матрикса. В глубине рубцовой ткани встречаются инфильтраты вокруг шовных нитей.

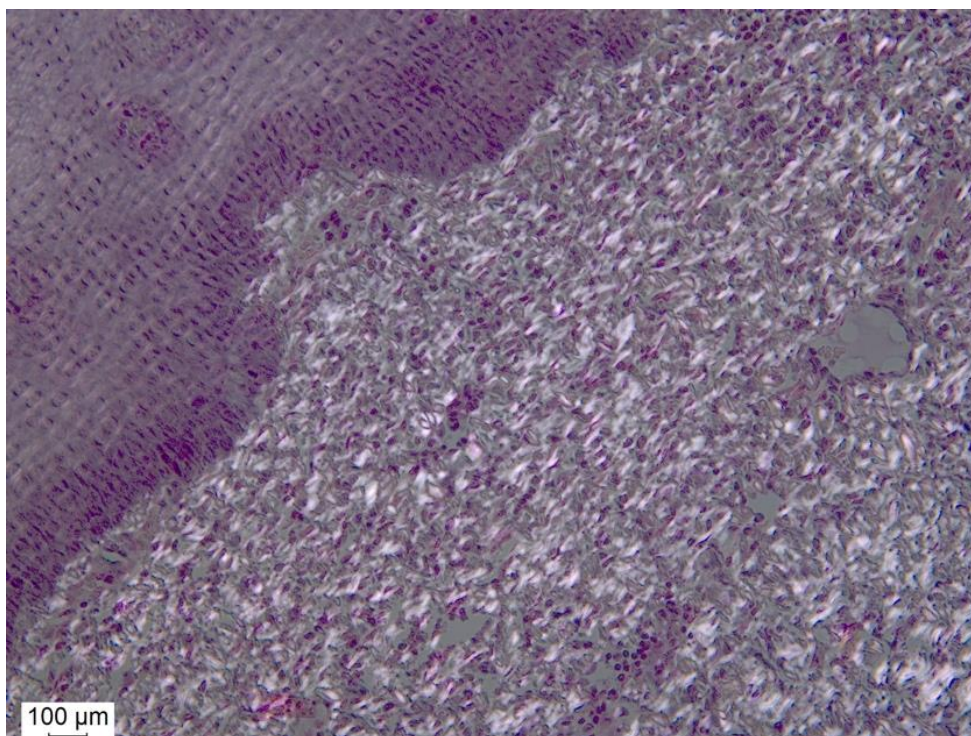


Рисунок 50 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 1, 10 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 49. Заметная анизотропия коллагеновых волокон в рубцово-фиброзной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия, увеличение 200х

### 3.2.3. Результаты гистологического исследования группы 2

На 3 *сутки* после фиксации к области созданного дефекта на слизистой оболочке твердого неба коллагеновой пленки с левомецетином и метилурацилом поверхность раневого дефекта относительно чистая, местами на ней остаются небольшие остатки фибрина и фокусы кровоизлияния. Эпителий по обеим сторонам дефекта гипертрофирован. В ткани неба отмечается умеренно выраженный отек и слабая лимфо-макрофагальная инфильтрация с примесью нейтрофилов и эозинофилов (Рисунок 51).



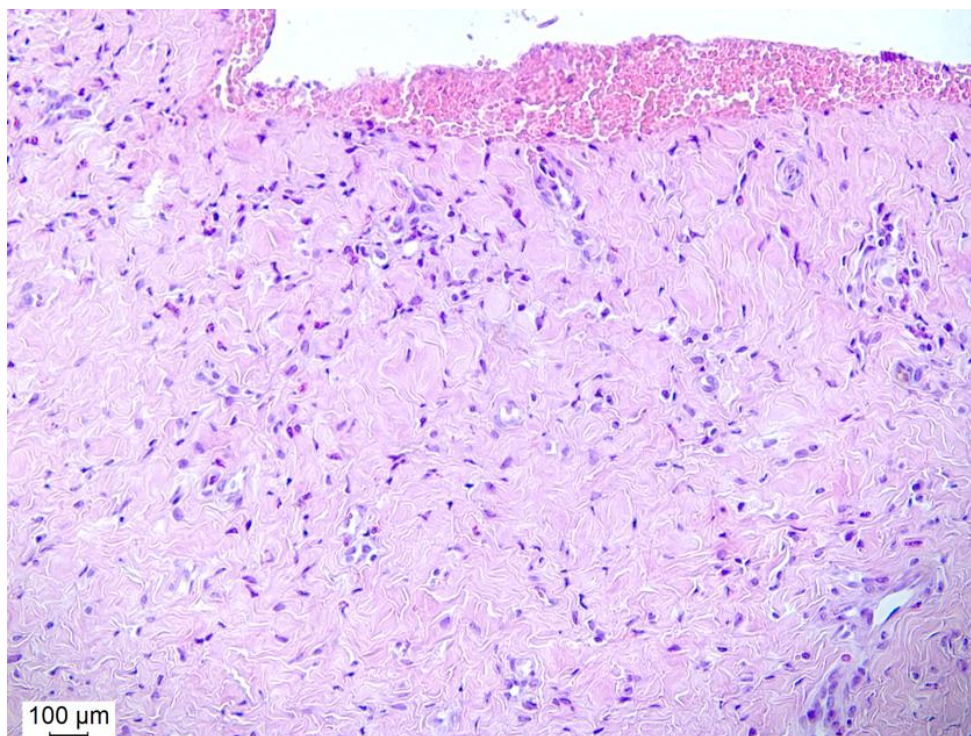


Рисунок 51 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 3 сутки после хирургического вмешательства. Лимфо-макрофагальная и слабая нейтрофильная инфильтрация раневых тканей. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

При проведении фазово-контрастной микроскопии отчетливо видно, что структура коллагеновых волокон и пучков сохранена (Рисунок 52). При поляризационной микроскопии определяется анизотропия коллагеновых волокон. Так же, как и в группе с имплантацией коллагеновой мембраны из перикарда, в глубине ткани выявляются участки инфильтрации макрофагами и нейтрофилами вокруг фрагмента пленки.

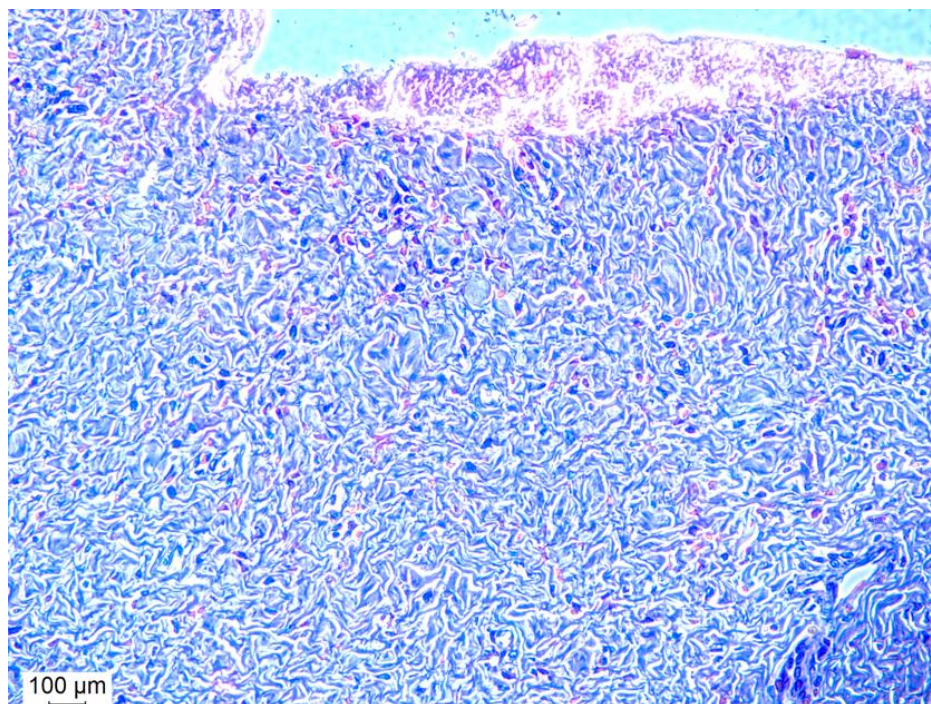


Рисунок 52 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 3 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 51. Структура коллагеновых волокон сохранена. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 200х

На 6 *сутки* дефект полностью закрыт гипертрофированным эпителием с выраженным акантозом. Под эпителием обнаруживается грануляционная ткань, переходящая в фиброзную (Рисунок 53).

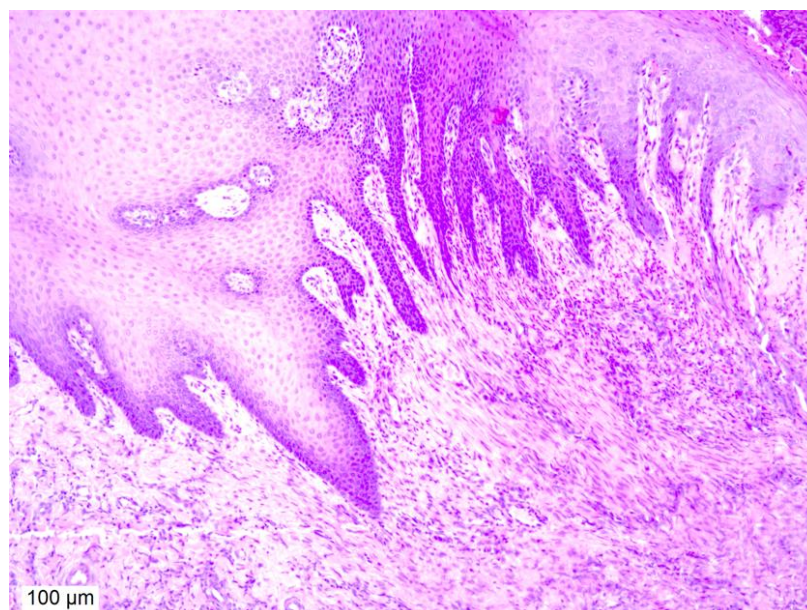


Рисунок 53 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 6 сутки после хирургического вмешательства. Резко выраженный акантоз гипертрофированного эпителия. Под ним расположена грануляционная ткань, переходящая в фиброзно-рубцовую ткань. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х



В ткани видны пучки однонаправленных веретеновидных фибробластов и участки лимфо-макрофагальной инфильтрации (Рисунок 54).

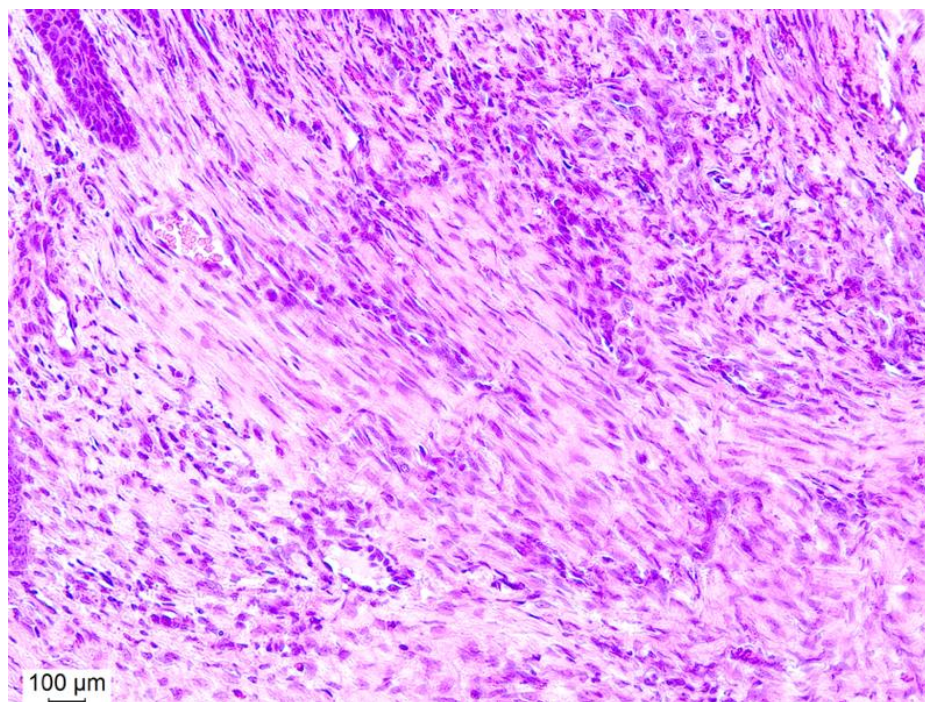


Рисунок 54 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 6 сутки после хирургического вмешательства. Тот же микропрепарат, что и на Рисунке 53. Пролиферация фибробластов в грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х

При выполнении фазово-контрастной микроскопии отчетливо видна волокнистость параллельно расположенных коллагеновых волокон, которые при поляризационной микроскопии дают анизотропию (Рисунок 55).

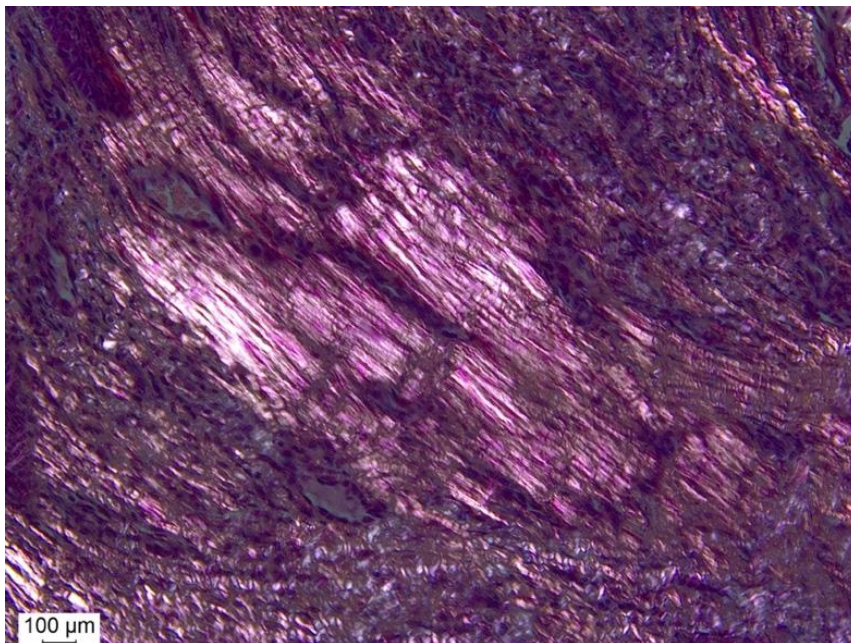


Рисунок 55 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 6 сутки после хирургического вмешательства. Тот же участок, что и на Рисунке 54. Анизотропия продольно расположенных коллагеновых волокон. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия, увеличение 400х

Через 10 суток после закрытия раневого дефекта коллагеновой пленкой под гипертрофированным эпителием видна фиброзно-рубцовая ткань, состоящая из фибробластов, уменьшенного количества лимфоцитов и макрофагов и параллельно расположенных коллагеновых волокон (Рисунок 56).

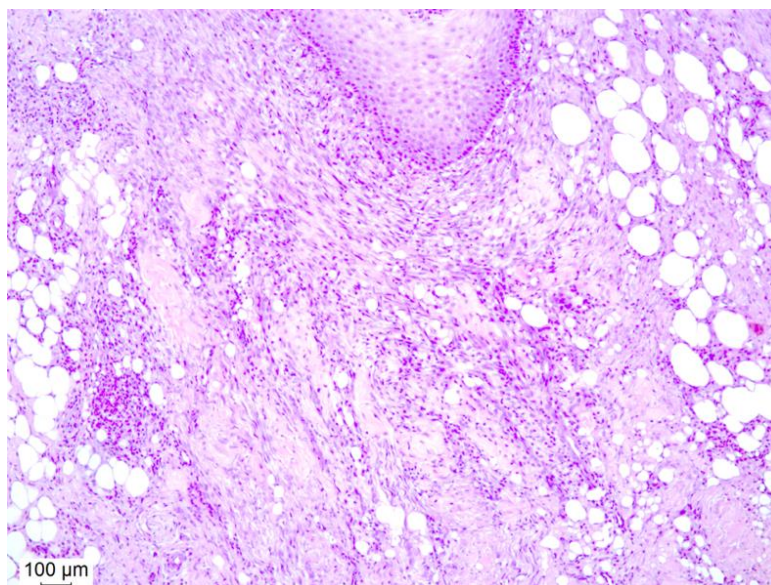


Рисунок 56 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 10 сутки после хирургического вмешательства. Под гипертрофированным эпителием расположена грануляционная ткань, переходящая в фиброзно-рубцовую ткань. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х



При фазово-контрастной микроскопии видна развитая сеть коллагеновых волокон (Рисунок 57).

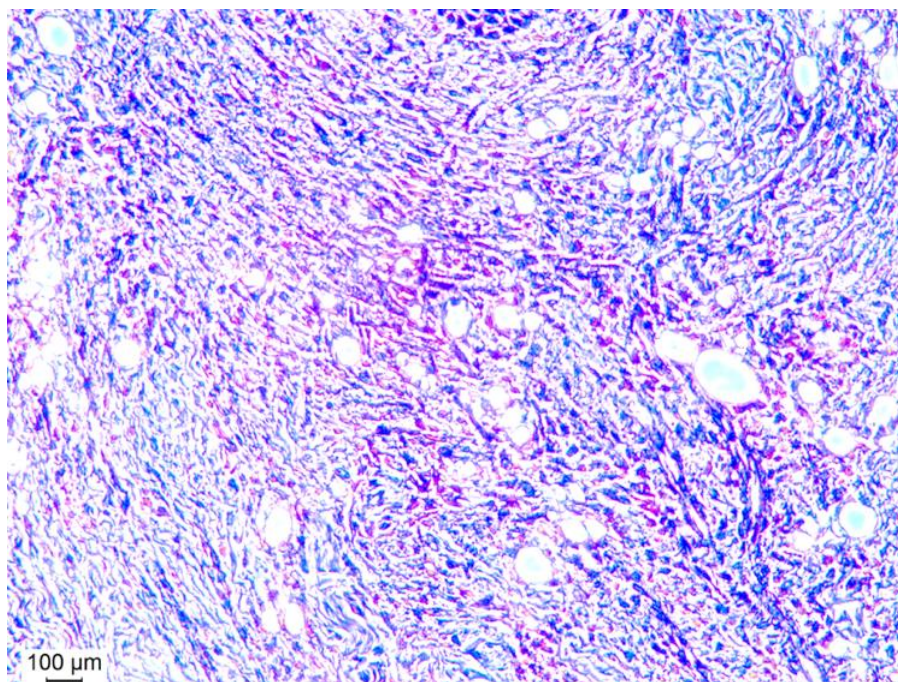


Рисунок 57 – Гистологический препарат слизистой оболочки твердого неба, группа 2, 10 сутки после хирургического вмешательства. Тот же микропрепарат, что и на Рисунке 56. Видны параллельные пучки фибробластов и коллагена. Фазово-контрастная микроскопия, увеличение 200x

### 3.2.4. Результаты гистоморфометрического исследования

При изучении гистологических препаратов, полученных на 3, 6 и 10 сутки после оперативного вмешательства на слизистой оболочке твердого неба, также проводили сравнительный анализ динамики регенеративного процесса в донорской зоне в зависимости от использованного для ее закрытия коллаген-содержащего препарата на основании морфометрического метода исследования. Мы оценивали такие показатели клеточного состояния донорской зоны как количество нейтрофилов, площадь грануляционной ткани и площадь новообразованной соединительной ткани.

В Таблице 10 представлены средние значения рассчитанных показателей динамики течения раневого процесса у экспериментальных животных групп исследования и группы сравнения.

Таблица 10 – Морфометрическая характеристика раневой поверхности на слизистой оболочке твердого неба у экспериментальных животных

	3 сутки	6 сутки	10 сутки
Группа 1			
Количество нейтрофилов (%)	13,25±0,99	0	0
Площадь грануляционной ткани (%)	13,75±1,44	47,5±2,89	22,5±1,67
Площадь соединительной ткани (%)	0	31±2,31	57,5±2,89
Группа 2			
Количество нейтрофилов (%)	16,5±0,75	0	0
Площадь грануляционной ткани (%)	0	35±2,36	25±2,36
Площадь соединительной ткани (%)	0	22,5±1,67	42,5±2,89
Группа сравнения			
Количество нейтрофилов (%)	31,5±0,75	12,5±0,75	0
Площадь грануляционной ткани (%)	0	21,25±2,76	17,5±1,67
Площадь соединительной ткани (%)	0	16,25±2,76	26,25±1,44

Примечание: различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$

Сравнивая средние показатели между тремя исследуемыми группами, достаточно наглядным являлось наличие выраженной и длительно сохраняющейся воспалительной инфильтрации тканей донорской зоны при заживлении вторичным натяжением. При закрытии раневой поверхности коллаген-содержащими препаратами на 3 сутки степень выраженности воспалительного процесса была значительно ниже, а содержание нейтрофилов в исследованных образцах было ниже в 2 раза, чем в образцах из группы сравнения. В исследуемых группах на 6 и 10 сутки не определяли нейтрофильную инфильтрацию. В гистологических препаратах группы сравнения количество нейтрофилов в тканях снижалось к 6 суткам наблюдения, а исчезала только к 10 суткам. Полученные данные являются статистически достоверными с высокой степенью безошибочного прогноза ( $p \leq 0,01$ ). Динамика изменения воспалительных изменений в тканях донорской зоны во всех исследуемых группах представлена на Рисунке 58.

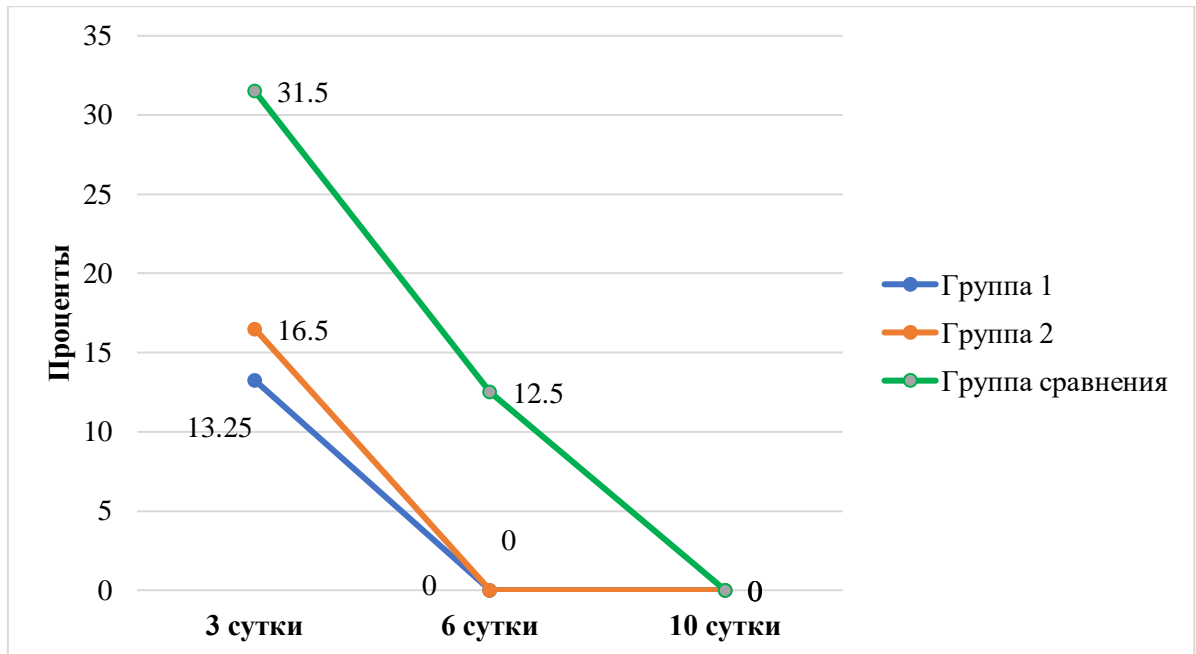


Рисунок 58 – Динамика развития воспалительной инфильтрации слизистой оболочки твердого неба у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

Течение регенеративного процесса и формирование грануляционной ткани было наиболее интенсивным при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда по данным морфометрического метода исследования: первые признаки формирования незрелой грануляционной ткани по краям дефекта определяются на 3 сутки после нанесения раны. В этот же период наблюдения при закрытии дефекта коллагеновой пленкой и при заживлении вторичным натяжением грануляционная ткань во всех препаратах отсутствовала. К 6 суткам во всех группах определяли прогрессирование роста грануляционной ткани. Постепенное снижение интенсивности роста грануляций отметили на 10 сутки наблюдения, что связано с замещением данной ткани на соединительную. Статистический анализ полученных показателей роста грануляционной ткани показал достоверность различий (в период наблюдения 3 и 6 суток  $p \leq 0,01$ ; на 10 сутки наблюдения  $p \leq 0,05$ ). Динамика образования грануляционной ткани в области полученного СДТ во всех исследуемых группах представлена на Рисунке 59.

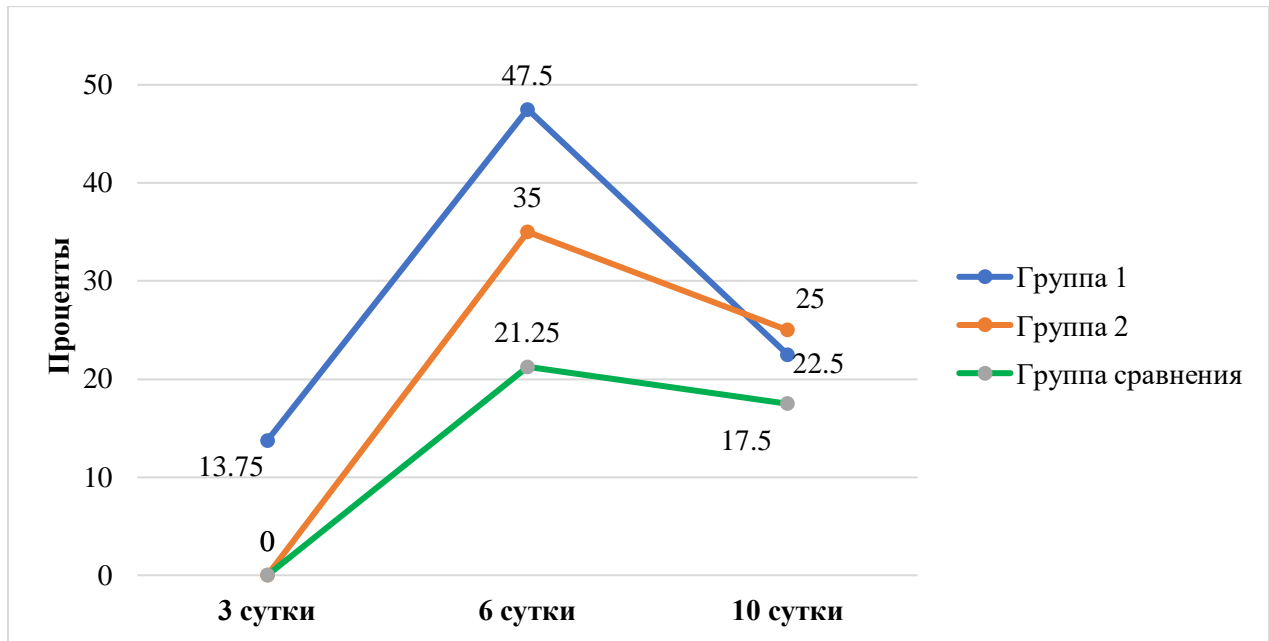


Рисунок 59 – Динамика формирования грануляционной ткани на твердом небе у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

Сниженная регенерация тканей донорской зоны при заживлении вторичным натяжением также прослеживалась и при оценке площади сформировавшейся соединительной ткани. По сравнению с образцами из группы 1 на 6 сутки послеоперационного периода площадь соединительной ткани была в три раза меньше и в 1,5 раза меньше, чем в образцах из группы 2. К 10 суткам данная тенденция сохранилась во всех группах. При использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда соединительная ткань более зрелая. Полученные средние значения площади соединительной ткани являются статистически достоверными во все периоды наблюдения (на 6 сутки  $p \leq 0,05$ ; на 10 сутки  $p \leq 0,01$ ). Динамика образования соединительной ткани в области полученного СДТ во всех исследуемых группах представлена на Рисунке 60.



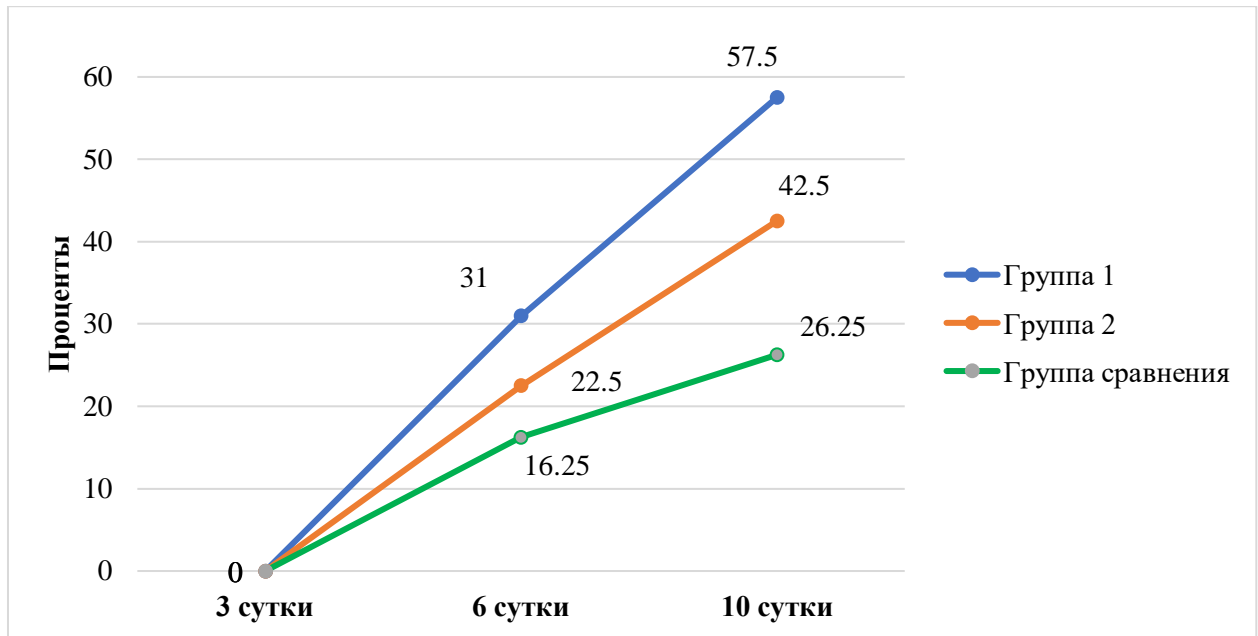


Рисунок 60 – Динамика формирования соединительной ткани на твердом небе у экспериментальных животных после проведения оперативного вмешательства

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди множества направлений хирургической стоматологии в последние годы все большую актуальность приобретает хирургия пародонта и мукогингивальная хирургия (Амхадова М.А. и соавт., 2015; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Шашурина С.В., 2017; Ашурко И.П. и соавт., 2019; Тарасенко С.В. и соавт., 2019; Брайловская Т.В. и соавт., 2020; Дурново Е.А. и соавт., 2020; Фархшатова Р.Р. и соавт., 2021; Kissa J. et al., 2017; Thoma D.S. et al., 2018; Rojas M.A. et al., 2019; Clem D.S. III et al., 2020; Barootchi S. et al., 2020; Cairo F. et al., 2020; Dias J.J. et al., 2020; Zucchelli G. et al., 2020; Rasperini G. et al., 2021; Tavelli L. et al., 2021; Vlachodimou E. et al., 2021). Аугментация мягких тканей, впервые примененная более 50 лет назад, все чаще проводится не только в области зубов, но и в области установленных дентальных имплантатов (Долгалев А.А. и соавт., 2017; Ашурко И.П. и соавт., 2019; Zuhr O. et al., 2014; Kim D.M., Neiva R., 2015; Wu Q. et al., 2015; Kissa J. et al., 2017; Thoma D.S. et al., 2018; Zucchelli G. et al., 2020; Han Z. et al., 2021; Shah A., Kothiwale S.V., 2021; Tavelli L. et al., 2021). Наиболее частыми показаниями являются процедуры по закрытию поверхности корня и пластике рецессий, увеличение объема кератинизированной десны, увеличение объема мягких тканей и коррекции слизисто-десневых деформаций (Беспалова Н.А. и соавт., 2015; Грудянов А.И., Николаев А.В., 2016; Дурново Е.А. и соавт., 2018; Булкина Н.В. и соавт., 2020; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Ксембаев С.С. и соавт., 2021; Silva C.O. et al., 2010; Yaghobee S. et al., 2018; Amaliya A. et al., 2019; Chambrone L. et al., 2019; Dias J.J. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020). Данные пластические хирургические вмешательства на тканях пародонта и периимплантных тканях рекомендованы для достижения долгосрочных благоприятных результатов, которые будут отражаться в сохранении строения тканей, поддержании функции и эстетики (Шашурина С.В., 2017; Thoma D.S. et al., 2018; Yaghobee S. et al., 2018; Zucchelli G. et al., 2020; Vallecillo C. et al., 2021).

«Золотым стандартом» аугментации мягких тканей полости рта является свободный десневой трансплантат (Трофимов А.С., 2009; Смбатян Б.С. и соавт., 2011; Беспалова Н.А. и соавт., 2015; Долгалев А.А. и соавт., 2017; Едранов С.С., Керзиков Р.А., 2017; Зюлькина Л.А. и соавт., 2017; Амхадова М.А., Фролов А.М., 2018; Shanmugam M. et al., 2010; Kulkarni M.R. et al., 2014; Yaghobee S. et al., 2018; Lafzi A. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020). Принципы заживления тканей и факторы, влияющие на процесс регенерации при использовании данной методики, были тщательно изучены, что сделало применение СДТ достаточно предсказуемой операцией (Смбатян Б.С. и соавт., 2011; Антипова Е.В., Пономарев О.Ю., 2016; Едранов С.С., Керзиков Р.А., 2017; Azar E.L. et al., 2019; Zucchelli G. et al., 2020).

Основные недостатки при использовании СДТ связаны с созданием второго операционного поля в области твердого неба: отмечается повышение послеоперационного болевого синдрома, развитие дополнительных интра- и послеоперационных осложнений со стороны донорской зоны, включая кровотечение, присоединение вторичной инфекции, нарушение чувствительности тканей, а также увеличенное время оперативного вмешательства (Дурново Е.А. и соавт., 2018; Семенцов И.В. и соавт., 2020; Shanmugam M. et al., 2010; Silva C.O. et al., 2010; Firat E.T. et al., 2014; Dias S.B. et al., 2015; Keceli H.G. et al., 2015; Keskiner I. et al., 2016; Yaghobee S. et al., 2018; Amaliya A. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019; Veríssimo A.H. et al., 2021). Все это способствовало разработке и внедрению в практику заменителей соединительной ткани. Они представлены аллогенными и ксеногенными матрицами на основе коллагена (Alloderm, DynaMatrix, Mucograft) и тканеинженерными конструкциями (CelTxTM, Dermagraft) (Эристов З.А. и соавт., 2013; Баулин И.М., 2015; Долгалев А.А. и соавт., 2017; Зюлькина Л.А. и соавт., 2017; Шашурина С.В., 2017; Орехова Л.Ю. и соавт., 2019; Фархшатова Р.Р. и соавт., 2020; Häkkinen L. et al., 2014; Agarwal C. et al., 2015; Bertl K., et al., 2017; Luo R.M. et al., 2020; Mahn D.H., 2020; Al-Hamdan K., 2021). Однако проведенные сравнительные исследования продемонстрировали меньшую эффективность коллагеновых матриц и способность увеличения кератинизированных тканей, а

также стабильность параметров мягких тканей в долгосрочной перспективе в сравнении с традиционными методами мукогингивальной хирургии (Тарасенко С.В. и соавт., 2015; Chambrone L., Tatakis D.N., 2015; Schmitt C.M. et al., 2016; Bertl K., et al., 2017; Varootchi S. et al., 2020; Cevallos C.A.R. et al., 2020).

Для снижения вероятности развития послеоперационных осложнений и интенсивности болевого синдрома, ускорения течения регенеративных процессов и эпителизации раны в донорской зоне после получения СДТ предложены разнообразные методы лечения: модификация процедур забора трансплантата и ушивание раны, использование лазерного излучения, антисептические пленки и пародонтальные повязки, аллогенные и синтетические мембраны, гемостатические губки и обогащенный тромбоцитами фибрин, изготовление защитных капп и воздействие на раневую поверхность биологически активными материалами и молекулами (Зорина О.А. и соавт., 2014; Пуляевский М.А. и соавт., 2015; Ушаков Р.В. и соавт., 2015; Жиров А.И., 2016; Рябова Д.А. и соавт., 2016; Арсенина О.И. и соавт., 2017; Дурново Е.А. и соавт., 2018; Тимошин А.В. и соавт., 2018; Yen C.A. et al., 2007; Shanmugam M. et al., 2010; Hammad H.M. et al., 2011; Kim S.H. et al., 2012; Kulkarni M.R. et al., 2014; Keskiner I. et al., 2016; Yaghobee S. et al., 2018; Amaliya A. et al., 2019; Belkhede S.G. et al., 2019; Lee K. et al., 2019; Sezgin Y. et al., 2019; Chiu T.S. et al., 2020; Kadkhoda Z. et al., 2020; Toledano M. et al., 2020). В большинстве исследований были продемонстрированы преимущества и недостатки разработанных материалов для закрытия раневых дефектов слизистой оболочки рта. Однако такого, который удовлетворял бы всем требованиям, пока не удалось получить. В связи с этим представляло интерес провести сравнительный анализ применения новых биорезорбируемых мембран из ксеноперикарда и коллагеновой пленки при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта, изучить особенности регенерации слизистой оболочки твердого неба при использовании ксеногенных мембран в рамках эксперимента на животных.

Целью нашего исследования явилось повышение эффективности хирургического лечения стоматологических пациентов путем экспериментальной разработки метода закрытия раневых дефектов слизистой оболочки рта с

применением биорезорбируемых мембран из ксеноперикарда и коллагеновой пленки в комбинации с левомецетином и метилурацилом.

На базе Центрального вивария ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в мае 2019 года было проведено экспериментальное исследование на 36 кроликах породы Шиншилла. Все экспериментальные животные были разделены на три группы в зависимости от материала, который использовали для закрытия раневого дефекта слизистой оболочки на твердом небе: 12 животным, включенным в 1 группу, после создания раневой поверхности размером 5х5 мм к краям дефекта фиксировали коллагеновую мембрану из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом; у 12 экспериментальных животных 2 группы созданный раневой дефект закрывали коллагеновой пленкой с левомецетином и метилурацилом; 12 кроликов, у которых заживление раневой поверхности проходило путем вторичного натяжения, составили группу сравнения. Стоит отметить, что использованные в данном исследовании материалы для закрытия раневой поверхности, являются собственной разработкой Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

На 3, 6 и 10 сутки после проведенного хирургического вмешательства в рамках послеоперационного контроля за состоянием экспериментальных животных оценивали их общее состояние, а также интенсивность болевого синдрома, степень выраженности гиперемии и отека слизистой оболочки, кровоточивость донорской зоны. По данным гистологического и гистоморфометрического методов исследования оценивали биоптаты слизистой оболочки и течение регенеративного процесса в области созданного дефекта мягких тканей.

Послеоперационный болевой синдром оценивали по изменению пищевого поведения животных. На 3 сутки после оперативного вмешательства у животных отмечали наибольшую интенсивность болевого синдрома, который снижался к 6 суткам и практически исчезал к 10 суткам наблюдения. При закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной из ксеноперикарда болевой синдром был

наименее выражен, что нашло отражение как в показателях средних значений, так и при оценке долевой структуры. Особенно это заметно на 3 сутки послеоперационного периода ( $1,58 \pm 0,2$  балла), когда полученные в группах средние значения имеют достоверные различия. Менее благоприятная картина была отмечена при использовании коллагеновой пленки: средние значения интенсивности боли на 3 сутки ( $1,92 \pm 0,24$  балла) значительно ниже, чем в группе сравнения, однако к 6 суткам резкого изменения и снижения интенсивности боли не отметили ( $1,5 \pm 0,2$  балла). У половины животных этой группы отмечали умеренную боль, что существенно повлияло на средний показатель. Наиболее выраженный и длительно сохранявшийся болевой синдром, как и предполагали, был зарегистрирован у животных группы сравнения ( $2,5 \pm 0,16$  балла на 3 сутки,  $1,63 \pm 0,2$  балла на 6 сутки и  $1 \pm 0,47$  балла на 10 сутки).

Гиперемия слизистой оболочки также, как и болевой синдром, была отмечена у всех экспериментальных животных. Как и в случае любого оперативного вмешательства, максимальным данный показатель был зарегистрирован на 3 сутки послеоперационного периода и соответствовал умеренной гиперемии. Статистический анализ продемонстрировал достоверность различий и несколько меньшую интенсивность изменения цвета слизистой оболочки при закрытии раны коллагеновой мембраной из ксеноперикарда ( $1,83 \pm 0,17$  балла у животных 1 группы и  $2,17 \pm 0,22$  балла у животных 2 группы). К 6 суткам гиперемия слизистой оболочки сохранялась, а средние значения у животных исследуемых групп были практически одинаковыми, не имели значимых отличий между собой и составили  $1 \pm 0,29$  балла при закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной и  $1,25 \pm 0,27$  балла – при использовании коллагеновой пленки. К 10 суткам цвет слизистой оболочки в зоне получения СДТ достигал бледно-розового цвета практически у всех животных исследуемых групп. Анализируя распределение животных по степени интенсивности цвета слизистой оболочки внутри групп, можно четко отметить некоторые достоверные различия показателей структуры выраженности гиперемии у животных исследуемых групп на разных этапах послеоперационного периода. При использовании коллагеновой мембраны к окончанию 10-дневного периода

наблюдения у всех экспериментальных животных окружающая слизистая оболочка приобретала бледно-розовый цвет. При заживлении вторичным натяжением в группе сравнения отмечали наименее благоприятное течение раневого процесса и длительное сохранение гиперемии слизистой оболочки твердого неба, даже на 10 сутки послеоперационного периода ( $2,58 \pm 0,16$  балла на 3 сутки,  $1,5 \pm 0,2$  балла на 6 сутки и  $1,25 \pm 0,29$  балла на 10 сутки).

Максимальный отек слизистой оболочки твердого неба был отмечен на 3 сутки наблюдения ( $1,92 \pm 0,24$  балла при использовании коллагеновой мембраны и  $2,17 \pm 0,17$  балла при закрытии раны коллагеновой пленкой). Дальнейший период послеоперационного наблюдения сопровождался выраженным снижением интенсивности отека мягких тканей неба к 6 суткам и полного его исчезновения к 10 суткам. При этом стоит отметить, что средние значения выраженности отека и динамика его развития у животных обеих исследуемых групп являются крайне близкими и не имеют достоверных различий между собой за исключением 3 суток, на которые соотношение доли животных с незначительным и умеренно выраженным отеком было более благоприятным при использовании коллагеновой мембраны для закрытия раневой поверхности. У животных группы сравнения во время всего послеоперационного периода отмечали наиболее выраженный отек слизистой оболочки ( $2,67 \pm 0,15$  балла на 3 сутки,  $1,63 \pm 0,28$  балла на 6 сутки и  $0,5 \pm 0,33$  балла на 10 сутки), а у половины животных этой группы – его сохранение до 10 суток.

В качестве еще одного показателя течения раневого процесса у экспериментальных животных оценивали кровоточивость слизистой оболочки и формирующейся грануляционной ткани в области созданного раневого дефекта. Уже на 3 сутки послеоперационного наблюдения была отмечена значительная разница между результатами у животных в группе сравнения и в группах исследования. Показатели кровоточивости слизистой оболочки и их динамика у животных 1 и 2 групп достоверно ниже, чем у животных группы сравнения ( $1,67 \pm 0,15$  балла на 3 сутки,  $1,63 \pm 0,2$  балла на 6 сутки и  $0,75 \pm 0,29$  балла на 10 сутки), на протяжении всего периода наблюдения. Средние значения показателя

кровооточивости тканей у животных при закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной и коллагеновой пленкой являются весьма сходными, при этом у животных в группе 1 определяли более благоприятное течение раневого процесса на 3 и 6 сутки. К 10 суткам у исследуемых животных обеих групп регистрировали прекращение кровооточивости тканей и заживление раневой поверхности.

Сравнивая полученные результаты течения послеоперационного периода и процесса реэпителизации слизистой оболочки твердого неба с данными других исследователей, стоит отметить, что большинство авторов отмечает выраженный положительный эффект, а также снижение интенсивности болевого синдрома при использовании различных материалов, которые были фиксированы к донорской зоне на твердом небе. Martelloni M. et al. (2019) и Kadkhoda Z. et al. (2020) определяли полное закрытие раневой поверхности и отсутствие кровооточивости тканей через неделю после процедуры забора СДТ и закрытия раны амниотической мембраной. Kulkarni M.R. et al. (2014) использовали мембрану из PRF для донорской зоны: к 7 суткам наблюдения воспалительные явления в тканях твердого неба при клиническом исследовании отсутствовали, отмечали уменьшение площади раневой поверхности; реэпителизация наступала к 14 суткам. В группе сравнения под пародонтологической повязкой воспалительные явления в окружающих тканях сохранялись вплоть до 14 суток, также не было отмечено полного закрытия раны. Belkhede S.G. et al. (2019) отмечали высокую эффективность желатиновой губки, которая способствовала снижению интенсивности болевого синдрома, а заживление слизистой оболочки произошло к концу второй недели наблюдения. Зорина О.А. и соавт. (2014) для закрытия раневой поверхности на нижней челюсти после проведения операции вестибулопластики по Эдлану-Мейхеру использовали коллагеновые пластины «Тахокомб». Авторы сообщили о начале формирования грануляционной ткани уже на 3 сутки после операции и полной эпителизации раны к 14 суткам, а также были определены положительные аспекты клинического применения данного



материала: раневое покрытие обладало высокой степенью адгезии к ране и выраженным гемостатическим эффектом за счет входящего в его состав коллагена.

Обобщая полученные данные о заживлении раневой поверхности по таким параметрам как интенсивность болевого синдрома, гиперемия слизистой оболочки, коллатеральный отек тканей, кровоточивость слизистой оболочки, можно говорить о благоприятном течении послеоперационного периода при использовании коллагенсодержащих препаратов для закрытия раневой поверхности на твердом небе у экспериментальных животных в сравнении с заживлением раны вторичным натяжением. Все вышеперечисленные послеоперационные явления демонстрировали свои максимальные значения на 3 сутки послеоперационного наблюдения, очевидную положительную динамику к 6 суткам и практически полное исчезновение к окончанию сроков наблюдения. Сравнение выраженности и динамики указанных явлений в зависимости от используемого материала для закрытия раневой поверхности показало несколько более раннее снижение интенсивности послеоперационного воспалительного процесса и регенерации слизистой оболочки при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда.

При проведении гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки твердого неба в контрольной группе опытов, где дефект твердого неба заживал вторичным натяжением, на 3 сутки эпителизация раневой поверхности отсутствовала. Раневые ткани отличались воспалительной инфильтрацией (количество нейтрофилов  $31,5 \pm 0,75\%$ ), микрососудистой дезорганизацией, грануляционная ткань еще отсутствовала. К 6 суткам эпителизация на поверхности раны еще не заканчивалась, хотя вокруг дефекта определяли пролиферацию эпителиальных клеток. Дефект был заполнен незрелой грануляционной тканью, признаки воспаления уменьшались (количество нейтрофилов  $12,5 \pm 0,75\%$ ). По данным гистоморфометрического исследования площадь грануляционной ткани составила  $21,25 \pm 2,76\%$ , площадь соединительной ткани  $16,25 \pm 2,76\%$ . Через 10 суток поверхность дефекта была покрыта эпителием, под которым сохранялась фиброзирующая грануляционная ткань ( $17,5 \pm 1,67\%$ ).

Гистологическая картина в группах исследования, где раневая поверхность у животных была закрыта коллагеновой мембраной из ксеноперикарда или коллагеновой пленкой, значительно отличалась от таковой в контрольной группе. Через 3 суток в обеих группах эпителизация отсутствовала, но на краях дефекта уже отмечали гиперплазию эпителия. Воспалительная инфильтрация была снижена по сравнению с контролем (количество нейтрофилов  $13,25 \pm 0,99\%$  и  $16,5 \pm 0,75\%$  для группы 1 и группы 2 соответственно). В биоптатах из группы 1 часть дефекта была заполнена незрелой грануляционной тканью (площадь  $13,75 \pm 1,44\%$ ).

Через 6 суток в исследуемых группах отмечалась полная эпителизация раны, под эпителием была сформирована зрелая грануляционная ткань ( $47,5 \pm 2,89\%$  в образцах из группы 1 и  $35 \pm 2,36\%$  в образцах из группы 2), переходящая в рубцовую. Воспалительная инфильтрация тканей значительно ниже, чем в контроле. Наибольшим ускорением течения раневого процесса и регенерации тканей отличались образцы слизистой оболочки при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда (площадь соединительной ткани составила  $31 \pm 2,31\%$ ).

К 10 суткам донорская зона была эпителизирована, а под ней располагалась фиброзно-рубцовая ткань с минимально выраженной воспалительной инфильтрацией (площадь соединительной ткани составила  $57,5 \pm 2,89\%$  в образцах группы 1 и  $42,5 \pm 2,89\%$  в образцах группы 2). При использовании мембраны из ксеноперикарда отмечали формирование более зрелой рубцовой ткани, чем при закрытии раневой поверхности коллагеновой пленкой.

Следует отметить, что в полученных биоптатах на 3, реже на 6 сутки встречали небольшие фокусы имплантированного коллагена как перикарда, так и коллагеновой пленки, которые были окружены зоной макрофагальной инфильтрации и подвергались клеточной резорбции.

Таким образом, при закрытии раневой поверхности на слизистой оболочке твердого неба коллагеновой мембраной из ксеноперикарда и коллагеновой пленкой обнаруживаются заметная стимуляция и ускорение раневого процесса, в том числе

эпителизации и рубцевания. Отмечается определенное преимущество коллагеновой мембраны из ксеноперикарда.

Схожие результаты гистологического исследования были получены Рябовой Д.А. и соавт. (2016). Авторы проводили гистологическое сравнение течения раневого процесса в эксперименте при закрытии раны на твердом небе синтетическим полимерным материалом Реперен и при заживлении вторичным натяжением. Использование защитного раневого покрытия способствовало снижению интенсивности воспалительной инфильтрации тканей и формированию молодой грануляционной ткани уже на 3 сутки наблюдения; к 5 суткам определяли активный рост грануляционной и соединительной ткани, а к 7 суткам отмечали почти полное заживление раневой поверхности.

Сравнительный анализ применения биорезорбируемых мембран из ксеноперикарда и коллагеновой пленки при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте показал, что по данным оценки течения раневого процесса, регенерации тканей и гистологических методов исследования применение коллагеновых мембран позволяет повысить эффективность хирургического лечения пациентов с открытой раневой поверхностью на слизистой оболочке. Использование препаратов на основе коллагена положительно влияет на процессы регенерации, снижает интенсивность послеоперационных воспалительных явлений. Коллагеновая мембрана из ксеноперикарда с левомецетином и метилуарцилом при ее экспериментальном использовании продемонстрировала наиболее благоприятное течение раневого процесса, что в клиническом использовании будет значительно сокращать сроки реабилитации пациентов после процедур по забору СДТ для мягкотканной аугментации.

## ВЫВОДЫ

1. По данным клинических методов исследований наиболее благоприятное течение послеоперационного периода отмечено при использовании коллагеновой мембраны из ксеноперикарда, т.к. при этом по сравнению с применением коллагеновой пленки на 3 сутки интенсивность боли была ниже на  $0,33 \pm 0,27$  балла, выраженность гиперемии слизистой оболочки на  $0,33 \pm 0,24$  балла, выраженность коллатерального отека на  $0,25 \pm 0,26$  балла и кровоточивость тканей раневой поверхности на  $0,08 \pm 0,24$  балла; по сравнению с заживлением открытой раневой поверхности на 3 сутки интенсивность боли была ниже на  $0,92 \pm 0,3$  балла, выраженность гиперемии слизистой оболочки на  $0,75 \pm 0,23$  балла, выраженность коллатерального отека на  $0,75 \pm 0,19$  балла и кровоточивость тканей раневой поверхности на  $0,67 \pm 0,27$  балла.

2. По данным гистологического исследования при использовании коллагеновой мембраны и коллагеновой пленки обнаруживается заметная стимуляция и сокращение фаз раневого процесса, в том числе эпителизации и рубцевания. При закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной из ксеноперикарда определяется меньшая воспалительная инфильтрация тканей в раннем послеоперационном периоде, скорейшее формирование грануляционной ткани и ее созревание.

3. По данным морфометрического анализа к 3 суткам при закрытии раневой поверхности коллагеновой пленкой количество нейтрофилов составило  $16,5 \pm 0,75\%$ . Формирование грануляционной и соединительной ткани определяли только на 6 сутки наблюдения, и площадь их составила  $35 \pm 2,36\%$  и  $22,5 \pm 1,67\%$  соответственно; воспалительная инфильтрация тканей отсутствовала. К 10 суткам отмечали эпителизацию раневой поверхности и формирование фиброзно-рубцовой ткани: площадь грануляционной ткани составила  $25 \pm 2,36\%$ , площадь соединительной ткани –  $42,5 \pm 2,89\%$ .

4. При закрытии раневой поверхности коллагеновой мембраной из ксеноперикарда морфометрический анализ биоптатов продемонстрировал достаточно низкие показатели воспалительной инфильтрации тканей (количество нейтрофилов  $13,25 \pm 0,99\%$ ) и формирование грануляционной ткани (площадь  $13,75 \pm 1,44\%$ ) уже на 3 сутки послеоперационного периода. К 6 суткам отмечали прогрессирование роста грануляционной ткани и ее созревание: площадь составила  $47,5 \pm 2,89\%$  и  $31 \pm 2,31\%$  соответственно. На 10 сутки наблюдения также была отмечена полная эпителизация раневого дефекта слизистой оболочки и формирование зрелой соединительной ткани под ней (площадь грануляционной ткани составила  $22,5 \pm 1,67\%$ , площадь соединительной ткани –  $57,5 \pm 2,89\%$ ).

5. Сравнительный анализ эффективности применения биорезорбируемых коллагенсодержащих препаратов показал, что коллагеновая мембрана из ксеноперикарда с левомецетином и метилурацилом эффективнее по сравнению с коллагеновой пленкой, поскольку способствует заживлению раневого дефекта в более короткие сроки и может быть рекомендована для проведения дальнейшего клинического исследования при закрытии раневых поверхностей на слизистой оболочке твердого неба после получения свободных десневых трансплантатов для мягкотканной аугментации.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. После проведения клинического исследования коллагеновая мембрана из ксеноперикарда с левомицетином и метилурацилом может быть использована как препарат выбора при закрытии раневых поверхностей в полости рта, в том числе в области твердого неба после получения аутогенных десневых трансплантатов.

2. При проведении мягкотканной аугментации и создании второго операционного поля в области твердого неба рекомендуется использовать для закрытия раневой поверхности донорской зоны коллагенсодержащие препараты (мембраны, пленки, губки), которые оказывают стимулирующее действие на процессы регенерации слизистой оболочки и снижают интенсивность воспалительной реакции.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

СДТ – свободный десневой трансплантат

ССТ – субэпителиальный соединительнотканый трансплантат

IL-8 – интерлейкин 8

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

TGF – трансформирующий фактор роста

ФАК – киназа фокальной адгезии

$\alpha$ -SMA – альфа-актин гладких мышц

TNF – фактор некроза опухоли

IL-10 – интерлейкин 10

IL-6 – интерлейкин 6

HMGB1 – high-mobility group box 1

RAGE – рецептор конечных продуктов гликозилирования

NF- $\kappa$ B – ядерный фактор-каппа В

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

АКТГ – аденокортикотропный гормон

IL-1 $\beta$  – интерлейкин 1-бета

MIP-1 $\alpha$  – макрофагальный воспалительный белок-1 $\alpha$

MCP-1 – хемотаксический протеин-1 моноцитов

FGF – фактор роста фибробластов

VEGFA - фактор роста эндотелия сосудов А

ПЦР – полимеразная цепная реакция

EGF – эпидермальный фактор роста

HIF – фактор, индуцируемый гипоксией

TCA – трихлоруксусная кислота

EGFR – рецептор эпидермального фактора роста

KGF – фактор роста кератиноцитов

bFGF – основной фактор роста фибробластов

PRF – обогащенный тромбоцитами фибрин



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев М.М. Секреторные факторы иммунитета при экзогенных поражениях тканей полости рта у больных с химическими ожогами слизистой оболочки полости рта // Институт стоматологии. – 2010. – № 2 (47). – С. 44-45.

2. Амхадова М.А. Способ увеличения кератинизированной десны в области имплантатов с использованием небного соединительнотканного трансплантата / М.А. Амхадова, А.В. Мохов, З.Р. Музаева, И.М. Оздемиров, К.З. Шалабаева // Медицинский алфавит. – 2015. – Т.3. – №13. – С. 28-30.

3. Амхадова М.А. Динамическая оценка метаболизма в мягких тканях при дентальной имплантации у пациентов с тонким биотипом десны / М.А. Амхадова, А.М. Фролов // Медицинский алфавит. – 2018. – Т.3. – №24 (361). – С. 6-11.

4. Антипова Е.В. Виды десневых трансплантатов и их применение в пародонтологической стоматологии / Е.В. Антипова, О.Ю. Пономарев // Пародонтология. – 2016. – Т.21. – №2 (79). – С. 24-28.

5. Аралова М.В. Кинетика раневого процесса при различных методах стимуляции регенерации в ранах / М.В. Аралова, А.А. Глухов, А.П. Остроушко // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2018. – Т.11. – №3. – С. 173-178.

6. Арсенина О.И. Применение пленок «Диплен-Дента», содержащих хлоргексидин и метронидазол, в комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта у пациентов, находящихся на ортодонтическом лечении / О.И. Арсенина, А.И. Грудянов, А.С. Карпанова, Е.В. Фоменко, Е.В. Хазина // Клиническая стоматология. – 2017. – №3 (83). – С. 40-43.

7. Атрушкевич В.Г. Особенности микробиоценоза зубного налета у пациентов с агрессивным и хроническим генерализованным пародонтитом / В.Г. Атрушкевич, Е.А. Тихомирова, И.В. Зудина // Кремлевская медицина. Кремлевский вестник. – 2018. – №2. – С. 88-97.

8. Ашурко И.П. Сравнительный анализ различных методов увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны у пациентов при проведении дентальной имплантации: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Ашурко Игорь Павлович. – Москва, 2016. – 162 с.

9. Ашурко И.П. Сравнительный анализ методов увеличения кератинизированной прикрепленной десны в области дентальных имплантатов / И.П. Ашурко, С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, А.А. Ананьева // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2019. – №1-2 (43-44). – С. 48-59.

10. Базикян Э.А. Клиническое применение нового лазерного устройства в стоматологической практике / Э.А. Базикян, А.А. Чунихин, Н.В. Сырникова, А.Г. Чобанян, А.С. Клиновская, С.А. Гаджикулиев, Е.В. Ахмазов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание // 2020. – №4. – С. 6-10.

11. Баулин И.М. Экспериментально-клиническое обоснование применения коллагеновой матрицы для увеличения объема десны: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Баулин Иннокентий Михайлович. – Москва, 2015. – 126 с.

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

13. Благушина Н.А. Сравнительный анализ использования биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии раневых дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте // Сборник материалов II Всероссийской научно-практической Конференции «Современные достижения хирургической стоматологии». – Москва, 15 октября 2021 г. – С. 9-11.

14. Брайловская Т.В. Проведение мукогингивальной хирургии в области дентальных имплантатов / Т.В. Брайловская, А.П. Ведяева, Е.А. Шкваркина, О.Е. Щелкин, А.С. Хандзрацян // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2020. – №1-2 (47-48). – С. 62-71.

15. Булкина Н.В. Оценка эффективности хирургического устранения рецессии десны с применением неинвазивных методов коррекции дисфункции

эндотелия сосудистой стенки в зоне оперативного вмешательства / Н.В. Булкина, Л.А. Зюлькина, П.В. Иванов, А.П. Ведяева, Ю.Л. Осипова // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – №3. – С. 211-215.

16. Вавилова Т.П. Влияние различных способов хирургического повреждения слизистой оболочки щеки крыс на содержание основного фактора роста фибробластов и интерлейкинов 1 $\beta$  и 6 в динамике репаративных процессов / Т.П. Вавилова, И.В. Тарасенко, А.Е. Медведев, И.Г. Островская // Биомедицинская химия. – 2010. – Т.56. – №4. – С. 506-509.

17. Васильев А.В. Моделирование регенерации эпидермиса *in vitro*: совместное действие сыворотки и эпидермального фактора роста / А.В. Васильев, Е.А. Воротеляк, В.В. Терских // Онтогенез. – 1994. – Т.25. – С. 74.

18. Великанов А.Н. Стимуляция пролиферативной активности клеточных культур кератиноцитов NaCaT и мезенхимальных стромальных клеток крысы фемтосекундными лазерными импульсами / А.Н. Великанов, Ф.Е. Гостев, Е.А. Супруненко, И.В. Шелаев, В.И. Юсупов, В.А. Надточенко // Цитология. – 2015. – Т.57. – №8. – С. 572-577.

19. Винник Ю.С. Динамика локальной экспрессии коннексина-43 и рецепторов основного фактора роста фибробластов у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями кожи и мягких тканей на фоне сахарного диабета 2-го типа / Ю.С. Винник, А.Б. Салмина, О.В. Теплякова, А.И. Дробушевская, Н.А. Малиновская, Е.А. Пожиленкова, А.В. Моргун, А.Г. Гитлина // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2014. – Т.173. – №4. – С. 47-52.

20. Воложин А.И. Заживление хирургической раны слизистой оболочки полости рта под влиянием применения рекомбинантного эпидермального фактора роста в эксперименте / А.И. Воложин, В.В. Гемонов, Д.В. Кабалоева, Б.Ю. Суражев // Российская стоматология. – 2011. – Т.4. – №1. – С. 32-37.

21. Воложин А.И. Применение рекомбинантного эпидермального фактора роста при лечении ран слизистой оболочки полости рта при иммунодефицитном состоянии / А.И. Воложин, Д.В. Кабалоева, Б.Ю. Суражев // Российская стоматология. – 2011. – Т.4. – №2. – С. 8-14.

22. Гаин Ю.М. Обоснование применения комплексного трансплантата на основе амниотической мембраны и мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани для восстановления целостности кожных покровов / Ю.М. Гаин, Е.П. Киселёва, С.В. Шахрай // Новости хирургии. – 2012. – Т.20. – №4. – С. 9-16.

23. Грудянов А.И. Использование абсорбирующего раневого покрытия Тахокомб после проведения хирургических вмешательств на пародонте / А.И. Грудянов, О.А. Зорина // Стоматология. – 2008. – Т.87. – №1. – С. 27-30.

24. Грудянов А.И. Сравнительный анализ отдаленных результатов использования различных ауто- и аллотрансплантатов для создания зоны кератинизированной десны при вестибулопластике на нижней челюсти / А.И. Грудянов, А.В. Николаев // Стоматология. – 2016. – Т.95. – №1. – С. 40-43.

25. Грудянов А.И. Выбор покрывных материалов при проведении вестибулопластики и применение обезболивающих средств в зависимости от психоэмоциональных особенностей пациентов / А.И. Грудянов, А.В. Николаев // Стоматология. – 2016. – Т.95. – №6. – С. 36-39.

26. Гуторова А.М. Сравнительный анализ репаративных процессов в зависимости от метода хирургического лечения: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Гуторова Анна Михайловна. – Москва, 2019. – 147 с.

27. Долгалев А.А. Метод направленной тканевой регенерации для увеличения площади прикрепленной слизистой полости рта / А.А. Долгалев, В.К. Цогоев, Д.А. Брусницын, З.А. Аветисян, А.А. Чагаров // Пародонтология. – 2017. – Т.22. – №4 (85). – С. 73-76.

28. Дурново Е.А. Повышение эффективности гингиволастики с использованием свободных аутооттрансплантатов твердого неба / Е.А. Дурново, А.В. Миронова, А.А. Артифексова, Н.А. Беспалова // Стоматология. – 2013. – Т.92. – №6. – С. 33-36.

29. Дурново Е.А. Экспериментально-клиническая оценка эффективности использования полимерной мембраны при оперативных вмешательствах на слизистой оболочке полости рта / Е.А. Дурново, Д.А. Рябова,

Н.Ю. Орлинская, Н.Е. Хомутинникова // *Стоматология*. – 2018. – Т.97. – №5. – С. 48-53.

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

31. Едранов С.С. Морфогенез свободного десневого трансплантата / С.С. Едранов, Р.А. Керзиков // *Российский стоматологический журнал*. – 2017. – Т.21. – №2. – С. 111-116.

32. Ершова А.М. Сравнительный анализ эффективности применения синтетических и ксеногенных остеопластических материалов для восстановления объема альвеолярной кости челюстей перед дентальной имплантацией: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Ершова Анна Михайловна. – Москва, 2017. – 187 с.

33. Жиров А.И. Сравнительный анализ показателей уровня микробной обсемененности полости рта при проведении несъемного протезирования и медикаментозной поддержке тканей пародонта // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2016. – №4-5 (46). – С. 96-99.

34. Жмайлик Р.Р. Морфологические особенности раневой регенерации при местном применении рекомбинантного интерферона  $\alpha 2b$  в эксперименте / Р.Р. Жмайлик, В.Г. Богдан, Ю.С. Корнева, А.Е. Доросевич // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. – 2017. – Т.10. – №3. – С. 225-230.

35. Журавлев А.Н. Сравнительный анализ стрессовой реакции организма при хирургическом лечении стоматологических заболеваний с использованием режущих и ротационных инструментов и лазерного излучения: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Журавлев Александр Николаевич. – Москва, 2019. – 131 с.

36. Звигинцева М.М. Влияние факторов роста на регенерацию слизистой оболочки полости рта в условиях экспериментального диабета / М.М. Звигинцева, С.И. Старосветский, М.А. Звигинцев, Ю.В. Дубровина, И.В. Камендов // *Сибирский медицинский журнал (г. Томск)*. – 2007. – Т.22. – №1. – С. 52-55.

37. Зеленский И.В. Современные средства для лечения воспалительных заболеваний пародонта: используемые формы, перспективы совершенствования с применением компонентов минерального происхождения / И.В. Зеленский, С.Б. Евсеева, Б.Б. Сысуев, Н.Д. Бунятян, К.Г. Каракоев, В.А. Зеленский, Н.В. Косякова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т.13. – №4. – С. 701-705.

38. Зорина О.А. Показания к применению коллагенового раневого покрытия в мукогингивальной хирургии и методика его использования / О.А. Зорина, А.М. Молчанов, Р.А. Балыкин // Стоматология. – 2014. – Т.93. – №4. – С. 48-51.

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

40. Истранова Е.В. Исследование применения отечественных биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте / Е.В. Истранова, Н.А. Благушина, С.Б. Панькуш // Сборник трудов Национального конгресса с международным участием «Паринские чтения 2020. Актуальные вопросы диагностики, лечения и диспансеризации пациентов с хирургической патологией челюстно-лицевой области и шеи». – Минск, 7-8 мая 2020 г. – С. 36-39.

41. Кабалоева Д.В. Применение рекомбинантного эпидермального фактора роста для стимулирования регенерации слизистой оболочки полости рта при иммунодефицитном состоянии (экспериментальное исследование): автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.01.14; 14.03.03 / Кабалоева Дана Вячеславовна. – Москва, 2010. – 24 с.

42. Коняева А.Д. Эффективность использования нетканых пьезоэлектрических полимерных мембран на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом для закрытия раневых дефектов слизистой оболочки полости рта / А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, А.Е. Лейман, А.Д. Бадараев, Е.Н. Больбасов // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – Т.9. – №2. – С. 40-45.

43. Ксембаев С.С. Мукогингивальные аномалии как этиопатологенетический фактор развития рецессии десны / С.С. Ксембаев, Д.О. Бушеев, И.И. Валиева, А.А. Халиуллина, Л.Н. Хафизова // Проблемы стоматологии. – 2021. – Т. 17. – №2. – С. 14-18.
44. Молчанов А.М. Применение защитных раневых покрытий при мукогингивальных вмешательствах у пациентов с метаболическим синдромом: автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.01.14 / Молчанов Андрей Михайлович. – Москва, 2016. – 26 с.
45. Мороз Б.Т. Применение абсорбирующего раневого покрытия (Тахокомб) в мандибулярной вестибулопластике / Б.Т. Мороз, И.С. Рохваргер // Клиническая имплантология и стоматология. – 2001. – Т.3-4. – №17-18. – С. 64.
46. Морозов А.М. Современные методы стимуляции процесса регенерации послеоперационных ран / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, Н.А. Сергеев, Г.А. Дубатолов, Т.С. Рыжова, М.А. Пахомов, О.В. Пельтихина // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – №3 (123). – С. 7.
47. Морозова Е.А. Клиническое применение излучения диодного лазера для хирургического лечения пациентов со стоматологическими заболеваниями / Е.А. Морозова, С.В. Тарасенко, А.Н. Журавлев, Л.Б. Филимонова, Е.В. Стекольщикова // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2018. – Т.26. – №2. – С. 268-279.
48. Мочалова Д.А. Экспериментально-клиническое изучение особенностей регенерации слизистой оболочки полости рта с использованием полимерной мембраны: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Мочалова Дарья Александровна. – Нижний Новгород, 2015. – 158 с.
49. Николаев А.В. Сравнительная оценка эффективности использования ауто- и аллогенных материалов в целях коррекции архитектоники мягких тканей преддверия полости рта у пациентов: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Николаев Алексей Викторович. – Москва, 2018. – 133 с.
50. Орехова Л.Ю. In vitro-анализ пролиферативной активности клеток на коллагеновом 3D-матриксе для регенерации мягких тканей полости рта / Л.Ю.



Орехова, Р.Р. Фархшатова, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова, К.В. Данилко, Р.Р. Хайбуллина, И.В. Машкина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т. 14. – №5 (83). – С. 35-42.

51. Петрова М.Б. Морфологические реакции регенерата кожи в условиях применения цитокинов / М.Б. Петрова, Е.А. Харитоновна, Н.В. Павлова, Н.В. Костюк // Фундаментальные исследования. – 2013. – №9-6. – С. 1102-1105.

52. Пуляевский М.А. Оценка эффективности применения пленок диплена с различными антибактериальными компонентами при костной пластике и дентальной имплантации / М.А. Пуляевский, А.М. Панин, В.Н. Царев, В.И. Чувилкин, А.А. Харламов, Г.Д. Ахмедов // Российский стоматологический журнал. – 2015. – Т.19. – №3. – С. 16-19.

53. Раны и раневая инфекция [Текст]: руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – 591 с.

54. Рябова Д.А. Использование полимерной фосфолипидной матрицы для закрытия открытых ран на слизистой оболочке полости рта / Д.А. Рябова, Н.Ю. Орлинская, С.Н. Цыбусов, Н.Е. Хомутишникова, Р.Д. Лапшин, Е.А. Дурново // Современные технологии в медицине. – 2016. – Т.8. – №1. – С. 55-63.

55. Семенцов И.В. Закрытие донорского участка небного аутотрансплантата фибриновой мембраной / И.В. Семенцов, А.П. Пешко, М.Ю. Гоман // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2020. – №2 (80). – С. 92-93.

56. Смбатян Б.С. Экспериментальное биомоделирование для оценки возможности изменения морфотипа слизистой оболочки полости рта / Б.С. Смбатян, Г.Д. Капанадзе, М.В. Ломакин, А.С. Алейников, Г.М. Ожаровская, Н.А. Полева, Л.Т. Хуцишвили // Биомедицина. – 2011. – №3. – С. 19-24.

57. Степанов М.А. Хирургическое лечение лихеноидных поражений челюстно-лицевой области с помощью высокоинтенсивных лазеров: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Степанов Михаил Александрович. – Москва, 2020. – 149 с.

58. Суворова И.А. Ограничение воспалительной реакции при экспериментальном пародонтите у мышей с помощью биотехнологии репрограммирования макрофагов / И.А. Суворова, И.Ю. Малышев, С.Е. Черняев,

Ш.Л. Шиманский, О.О. Янушевич // Пародонтология. – 2015. – Т.20. – №4 (77). – С. 3-7.

59. Супильников А.А. Морфологические и физиологические аспекты течения раневого процесса (литературный обзор) / А.А. Супильников, А.А. Девяткин, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье // 2016. – №3 (23). – С. 144-151.

60. Тарасенко И.В. Содержание белков протеолиза в динамике заживления раневого дефекта слизистой оболочки щеки крыс, вызванного лазерным излучением // Лазерная медицина. – 2010. – Т.14. – №1. – С. 39-44.

61. Тарасенко С.В. Гистологические результаты использования коллагенового матрикса для увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны в области дентальных имплантатов / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, И.П. Ашурко, С.И. Бокарева, А.А. Макаревич // Российская стоматология. – 2015. – Т. 8. – №2. – С. 4-9.

62. Тарасенко С.В. Оптимизация регенерации минерализованных и мягких тканей челюстно-лицевой области после воздействия излучением Er:YAG-лазера / С.В. Тарасенко, Т.П. Вавилова, И.В. Тарасенко, Е.А. Морозова, А.М. Гуторова // Российский стоматологический журнал. – 2016. – Т.20. – №2. – С. 66-73.

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

64. Тарасенко С.В. Исследование применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационного дефекта на твердом небе в эксперименте / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Н.А. Благушина, М.Ю. Волкова // Актуальные вопросы стоматологии. Сборник тезисов межвузовской конференции. Российский университет дружбы народов. – 2019. – С. 77-80.

65. Тарасенко С.В. Экспериментальное исследование применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта кроликов / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Е.А. Морозова, Н.А. Благушина // Российский стоматологический журнал. – 2019. – № 23 (5). – С. 192-196.

66. Тарасенко С.В. Изучение применения биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте на кроликах / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Е.А. Морозова, Н.А. Благушина // Материалы II Международной научно-практической конференции «Европа – Азия. Сотрудничество без границ. Современные проблемы хирургии и смежных областей», посвященной 80-летию со дня рождения профессора Г.А. Гавриленко. – Оренбург, 2019. – С. 176-179.

67. Тарасенко С.В. Применение биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии послеоперационных дефектов слизистой оболочки рта (экспериментальное исследование) / С.В. Тарасенко, А.Б. Шехтер, Е.В. Истранова, Н.А. Благушина // I Международная конференция молодых ученых-стоматологов: сборник тезисов. – 2020. – С. 72-73.

68. Тарасенко С.В. Экспериментальное обоснование применения различных методов закрытия раневых дефектов слизистой оболочки рта / С.В. Тарасенко, Н.А. Благушина, А.М. Ершова, С.У. Балгаева // Российский стоматологический журнал. – 2021. – № 25 (3). – С. 269-277.

69. Тарасенко С.В. Гистологическая оценка использования биорезорбируемых коллагеновых мембран при закрытии раневых дефектов слизистой оболочки рта в эксперименте / С.В. Тарасенко, Н.А. Благушина // Вятский медицинский вестник. – 2022. – № 1 (73). – С. 67-75.

70. Тимошин А.В. Клинико-лабораторное обоснование эффективности применения фитопластин на основе коллагена при лечении воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Тимошин Антон Владимирович. – Москва, 2019. – 125 с.

71. Тимошин А.В. Опыт использования коллагеновых фитопластин при лечении афтозных поражений слизистой оболочки рта / А.В. Тимошин, А.В. Севбитов, В.В. Платонова, Е.В. Ергешева, С.Н. Миронов, А.Е. Дорофеев // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2018. – Т.20. – №11. – С. 49-52.
72. Тирская О.И. Применение гелеобразного покрытия на основе повииаргола в лечении травматических повреждений слизистой оболочки полости рта / О.И. Тирская, Е.М. Казанкова, Н.Е. Большедворская, С.Ю. Бывальцева, М.В. Федотова // Пародонтология. – 2018. – Т.23. – №3 (88). – С. 35-38.
73. Токмакова С.И. Сравнительная оценка антимикробной активности стоматологических гелей / С.И. Токмакова, Ю.В. Луницына, Ю.В. Киященко, К.С. Козлова, Е.В. Барг // Проблемы стоматологии. – 2014. – №1. – С. 30-33.
74. Топольницкий О.З. От скальпеля к лазеру. Сравнительные аспекты регенерации слизистой оболочки полости рта (экспериментальное исследование) / О.З. Топольницкий, А.И. Воложин, А.Б. Шехтер, Т.И. Позднякова, Ю.А. Зуйков, Е.И. Дорофеева // Российская стоматология. – 2011. – Т.4. – №5. – С. 30-35.
75. Трофимов А.С. Вестибулопластика свободным мукозным трансплантатом: автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.00.21 / Трофимов Антон Сергеевич. – Новосибирск, 2009. – 18 с.
76. Ушаков Р.В. Применение адгезивных лекарственных пленок «Диплен-дента» в стоматологии / Р.В. Ушаков, А.И. Грудянов, Г.А. Чухаджян, В.Н. Царев // Пародонтология. – 2000. – №3. – С. 13.
77. Ушаков Р.В. Доклиническое изучение стоматологической пленки с комбинированным антимикробным, противовоспалительным и антиоксидантным действием / Р.В. Ушаков, В.Н. Царев, А.Р. Ушаков, Т.П. Герасимова, Г.А. Чухаджян // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – Т. 135. – №4. – С. 30-33.
78. Ушаков Р.В. Иммуномодулирующая активность адгезивной пленки с хлоргексидином и кетопрофеном в крови больных хроническим

генерализованным пародонтитом / Р.В. Ушаков, Т.П. Герасимова, В.А. Николаев // Стоматология. – 2019. – Т.98. – №5. – С. 6-10.

79. Фархшатова Р.Р. Применение 3D коллагенового матрикса Fibromatrix для регенерации мягких тканей полости рта при лечении рецессии десны I класса по Миллеру / Р.Р. Фархшатова, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова // Эндодонтия Today. – 2020. – Т. 18. – №3. – С. 32-38.

80. Фархшатова Р.Р. Сравнительный анализ эффективности хирургических методов лечения рецессии десны I класса по Миллеру / Р.Р. Фархшатова, Л.П. Герасимова, И.Т. Юнусов // Пародонтология. – 2021. – Т. 26. – №2. – С. 150-157.

81. Февралева А.Ю. Сравнительный анализ отдаленных результатов использования различных аутотрансплантатов при создании зоны кератинизированной десны вокруг дентальных имплантатов // Пародонтология. – 2007. – №2 (43). – С. 15-21.

82. Шабашова Н.В. Местный иммунитет и микробиота ротовой полости (обзор) / Н.В. Шабашова, Е.Ю. Данилова // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т.17. – №4. – С. 4-13.

83. Шаповалова Е.Ю. Влияние ауто- и ксеногенных фибробластов и дермального эквивалента на содержание макрофагов в грануляционной ткани ишемизированной раны кожи на 12 сутки регенеративного гистогенеза / Е.Ю. Шаповалова, Г.А. Демяшкин, Т.А. Бойко, Ю.Г. Барановский, М.Н. Морозова, А.Г. Барановский, Е.С. Агеева // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14. – №1-2. – С. 255-260.

84. Шашурина С.В. Совершенствование методов хирургического лечения рецессий десны: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Шашурина Светлана Вадимовна. – Тверь, 2017. – 133 с.

85. Эристов З.А. Использование коллагенового матрикса Mucograft для увеличения зоны кератинизированной десны / З.А. Эристов, В.А. Бадалян, И.М. Баулин // Российская стоматология. – 2013. – Т.6. – №2. – С. 42-46.

86. Якушин С.В. Влияние топического применения иммуномодулятора и антиоксиданта на течение раневого процесса / С.В. Якушин, В.В. Усов, А.А. Полежаев, И.Л. Блохова // *Современные проблемы науки и образования*. – 2012. – №6. – С. 244.
87. Agarwal C. An acellular dermal matrix allograft (Alloderm) for increasing keratinized attached gingiva: A case series / C. Agarwal, B.T. Kumar, D.S. Mehta // *J Indian Soc Periodontol*. – 2015. – №19 (2). – P. 216-220.
88. Agis H. Prolyl hydroxylase inhibitors increase the production of vascular endothelial growth factor by periodontal fibroblasts / H. Agis, G. Watzek, R. Gruber // *J Periodontal Res*. – 2012. – №47 (2). – P. 165-173.
89. Aguirre-Zorzano L.A. Complications of harvesting a connective tissue graft from the palate. A retrospective study and description of a new technique / L.A. Aguirre-Zorzano, A.M. García-De La Fuente, R. Estefanía-Fresco, X. Marichalar-Mendía // *J Clin Exp Dent*. – 2017. – №9 (12). – P. e1439-1445.
90. Al-Hamdan K. Long-term predictability of allogenic dermal matrix for root coverage: Three years observation period on 15 consecutive cases // *Saudi Dent J*. – 2021. – №33 (2). – P. 99-104.
91. Al-Maawi S. Biologization of Collagen-Based Biomaterials Using Liquid-Platelet-Rich Fibrin: New Insights into Clinically Applicable Tissue Engineering / S. Al-Maawi, C. Herrera-Vizcaíno, A. Orłowska, I. Willershausen, R. Sader, R.J. Miron, J. Choukroun, S. Ghanaati // *Materials (Basel)*. – 2019. – №12 (23). – P. 3993.
92. Almeida A.L. Utilization of low-intensity laser during healing of free gingival grafts / A.L. Almeida, L.A. Esper, M.C. Sbrana, I.W. Ribeiro, R.O. Kaizer // *Photomed Laser Surg*. – 2009. – №27 (4). – P. 561-564.
93. Amaliya A. Histological Assessment of Palatal Donor Site Wound Healing after Application of Moringa oleifera Lamarck Leaf Extract in Rats / A. Amaliya, R.K. Muhaimina, A. Susanto, A.B. Sutjiatmo // *Eur J Dent*. – 2019. – №13 (2). – P. 248-254.
94. Amemiya T. Autologous transplantation of oral mucosal epithelial cell sheets cultured on an amniotic membrane substrate for intraoral mucosal defects / T.

Amemiya, T. Nakamura, T. Yamamoto, S. Kinoshita, N. Kanamura // *PLoS One*. – 2015. – №10 (4). – P. e0125391.

95. Avraham-Davidi I. On-site education of VEGF-recruited monocytes improves their performance as angiogenic and arteriogenic accessory cells / I. Avraham-Davidi, S. Yona, M. Grunewald, L. Landsman, C. Cochain, J.S. Silvestre, H. Mizrahi, M. Faroja, D. Strauss-Ayali, M. Mack, S. Jung, E. Keshet // *J Exp Med*. – 2013. – №210 (12). – P. 2611-2625.

96. Azar E.L. Histologic and Histomorphometric Analyses of De-epithelialized Free Gingival Graft in Humans / E.L. Azar, M.A. Rojas, M. Patricia, N. Carranza // *Int J Periodontics Restorative Dent*. – 2019. – №39 (2). – P. 221-226.

97. Bader A. Interactive role of trauma cytokines and erythropoietin and their therapeutic potential for acute and chronic wounds / A. Bader, K. Lorenz, A. Richter, K. Scheffler, L. Kern, S. Ebert, S. Giri, M. Behrens, U. Dornseifer, P. Macchiarini, H.G. Machens // *Rejuvenation Res*. – 2011. – №14 (1). – P. 57-66.

98. Ballestas S.A. Improving hard palate wound healing using immune modulatory autotherapies / S.A. Ballestas, T.C. Turner, A. Kamalakar, Y.C. Stephenson, N.J. Willet, S.L. Goudy, E.A. Botchwey // *Acta Biomater*. – 2019. – №91. – P. 209-219.

99. Banerjee J. MicroRNAs in skin and wound healing / J. Banerjee, Y.C. Chan, C.K. Sen // *Physiol Genomics*. – 2011. – №43 (10). – P. 543-556.

100. Barootchi S. Gingival phenotype modification therapies on natural teeth: A network meta-analysis / S. Barootchi, L. Tavelli, G. Zucchelli, W.V. Giannobile, H.L. Wang // *J Periodontol*. – 2020. – №91 (11). – P. 1386-1399.

101. Barrientos S. Growth factors and cytokines in wound healing / S. Barrientos, O. Stojadinovic, M.S. Golincio, H. Brem, M. Tomic-Canic // *Wound Repair Regen*. – 2008. – №16 (5). – P. 585-601.

102. Bartold P.M. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues / P.M. Bartold, A.S. Narayanan // *Periodontol 2000*. – 2006. – №40. – P. 29-49.

103. Basso F.G. Biomodulation of Inflammatory Cytokines Related to Oral Mucositis by Low-Level Laser Therapy / F.G. Basso, T.N. Pansani, D.G. Soares, D.L.



Scheffel, V.S. Bagnato, C.A. de Souza Costa. J. Hebling // *Photochem Photobiol.* – 2015. – №91 (4). – P. 952-956.

104. Belkhede S.G. Comparative evaluation of the platelet-rich fibrin bandage versus gelatin sponge-assisted palatal wound healing of free gingival graft donor site: A case series / S.G. Belkhede, S.K. Salaria, R. Aggarwal // *J Indian Soc Periodontol.* – 2019. – №23 (6). – P. 589-592.

105. Bertl K. Soft tissue substitutes in non-root coverage procedures: a systematic review and meta-analysis / K. Bertl, M. Melchard, N. Pandis, M. Müller-Kern, A. Stavropoulos // *Clin Oral Investig.* – 2017. – №21 (2). – P. 505-518.

106. Bianchi M.E. HMG proteins: dynamic players in gene regulation and differentiation / M.E. Bianchi, A. Agresti // *Curr Opin Genet Dev.* – 2005. – №15 (5). – P. 496-506.

107. Bierhaus A. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products / A. Bierhaus, P.M. Humpert, M. Morcos, T. Wendt, T. Chavakis, B. Arnold, D.M. Stern, P.P. Nawroth // *J Mol Med (Berl).* – 2005. – №83 (11). – P. 876-886.

108. Blagushina N. Comparative Analysis of the Use of Domestic Bioresorbable Collagen Membranes at the Closure of Postoperative Defects of the Oral Mucosa in an Experiment In vivo / N. Blagushina, E. Diachkova, M. Volkova, S. Pankush, S. Tarasenko // *Biointerface Res Appl Chem.* – 2021. – 11 (2). – P. 9804-9812.

109. Bodó E. Human hair follicles are an extrarenal source and a nonhematopoietic target of erythropoietin / E. Bodó, A. Kromminga, W. Funk, M. Laugsch, U. Duske, W. Jelkmann, R. Paus // *FASEB J.* – 2007. – №21 (12). – P. 3346-3354.

110. Boehler R.M. Tissue engineering tools for modulation of the immune response / R.M. Boehler, J.G. Graham, L.D. Shea // *Biotechniques.* – 2011. – №51 (4). – P. 239-240, 242, 244.

111. Bosch J.A. Depressive symptoms predict mucosal wound healing / J.A. Bosch, C.G. Engeland, J.T. Cacioppo, P.T. Marucha // *Psychosom Med.* – 2007. – №69 (7). – P. 597-605.

112. Bosco A.F. An alternative technique to the harvesting of a connective tissue graft from a thin palate: enhanced wound healing / A.F. Bosco, J.M. Bosco // *Int J Periodontics Restorative Dent.* – 2007. – №27 (2). – P. 133-139.
113. Bruno J.F. Connective tissue graft technique assuring wide root coverage // *Int J Periodontics Restorative Dent.* – 1994. – №14 (2). – P. 126-137.
114. Buemi M. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds / M. Buemi, M. Galeano, A. Sturiale, R. Ientile, C. Crisafulli, A. Parisi, M. Catania, G. Calapai, P. Impalà, C. Aloisi, F. Squadrito, D. Altavilla, A. Bitto, G. Tuccari, N. Frisina // *Shock.* – 2004. – №22 (2). – P. 169-173.
115. Bunyaratavej P. Collagen membranes: a review / P. Bunyaratavej, H.L. Wang // *J Periodontol.* – 2001. – №72 (2). – P. 215-229.
116. Burkhardt R. Self-reported pain perception of patients after mucosal graft harvesting in the palatal area / R. Burkhardt, C.H. Hämmerle, N.P. Lang; Research Group on Oral Soft Tissue Biology & Wound Healing // *J Clin Periodontol.* – 2015. – №42 (3). – P. 281-287.
117. Cairo F. Coronally advanced flap and composite restoration of the enamel with or without connective tissue graft for the treatment of single maxillary gingival recession with non-carious cervical lesion. A randomized controlled clinical trial / F. Cairo, P. Cortellini, M. Nieri, A. Pilloni, L. Barbato, G. Pagavino, M. Tonetti // *J Clin Periodontol.* – 2020. – №47 (3). – P. 362-371.
118. Cao J. Influence on proliferation and adhesion of human gingival fibroblasts from different titanium surface decontamination treatments: An in vitro study / J. Cao, T. Wang, Y. Pu, Z. Tang, H. Meng // *Arch Oral Biol.* – 2018. – №87. – P. 204-210.
119. Cevallos C.A.R. Free gingival graft and acellular dermal matrix for gingival augmentation: a 15-year clinical study // C.A.R. Cevallos, D.R.B. de Resende, C.A. Damante, A.C.P. Sant'Ana, M.L.R. de Rezende, S.L.A. Gregghi, M.S.R. Zangrando // *Clin Oral Investig.* – 2020. – №24 (3). – P. 1197-1203.
120. Chambrone L. Evidence-based periodontal plastic surgery. II. An individual data meta-analysis for evaluating factors in achieving complete root coverage

/ L. Chambrone, C.M. Pannuti, Y.K. Tu, L.A. Chambrone // *J Periodontol.* – 2012. – №83 (4). – P. 477-490.

121. Chambrone L. Periodontal soft tissue root coverage procedures: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop / L. Chambrone, D.N. Tatakis // *J Periodontol.* – 2015. – №86 (2 Suppl). – P. S8-51.

122. Chambrone L. Root coverage procedures for treating single and multiple recession-type defects: An updated Cochrane systematic review // L. Chambrone, M.A.S. Ortega, F. Sukekava, R. Rotundo, Z. Kalemaj, J. Buti, G.P.P. Prato // *J Periodontol.* – 2019. – №90 (12). – P. 1399-1422.

123. Chan Y.C. Downregulation of endothelial microRNA-200b supports cutaneous wound angiogenesis by desilencing GATA binding protein 2 and vascular endothelial growth factor receptor 2 / Y.C. Chan, S. Roy, S. Khanna, C.K. Sen // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2012. – №32 (6). – P. 1372-1382.

124. Chang P.C. Soft-tissue wound healing by anti-advanced glycation end-products agents / P.C. Chang, S.C. Tsai, Y.H. Jheng, Y.F. Lin, C.C. Chen // *J Dent Res.* – 2014. – №93 (4). – P. 388-393.

125. Cheung J.W. Establishing a gingival fibroblast phenotype in a perfused degradable polyurethane scaffold: mediation by TGF- $\beta$ 1, FGF-2,  $\beta$ 1-integrin, and focal adhesion kinase / J.W. Cheung, C.A. McCulloh, J.P. Santerre // *Biomaterials.* – 2014. – №35 (38). – P. 10025-10032.

126. Chiu T.S. A novel design of palatal stent to reduce donor site morbidity in periodontal plastic surgery / T.S. Chiu, H.C. Chou, P.J. Kuo, J.Y. Liang, H.C. Chiu // *J Dent Sci.* – 2020. – №15 (2). – P. 136-140.

127. Cho S.B. Histometric and histochemical analysis of the effect of trichloroacetic acid concentration in the chemical reconstruction of skin scars method / S.B. Cho, C.O. Park, W.G. Chung, K.H. Lee, J.B. Lee, K.Y. Chung // *Dermatol Surg.* – 2006. – №32 (10). – P. 1231-1236.

128. Choukroun J. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing / J. Choukroun, A. Diss, A.

Simonpieri, M.O. Girard, C. Schoeffler, S.L. Dohan, A.J. Dohan, J. Mouhyi, D.M. Dohan // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* – 2006. – №101 (3). – P. e56-60.

129. Clem D.S. III *Biologics in Regeneration: What Is Their Impact on Periodontal and Dental Implant Surgery?* / D.S. Clem III, S.E. Lynch, M. Nevins // *Compend Contin Educ Dent.* – 2020. – №41 (1). – P. 12-15.

130. Cullen B. *The role of oxidised regenerated cellulose/collagen in chronic wound repair and its potential mechanism of action* / B. Cullen, P.W. Watt, C. Lundqvist, D. Silcock, R.J. Schmidt, D. Bogan, N.D. Light // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2002. – №34 (12). – P. 1544-1556.

131. Dias J.J. *Management of inadequate keratinized gingiva and millers class III or IV gingival recession using two-stage free gingival graft procedure* / J.J. Dias, M. Panwar, M. Kosala // *J Indian Soc Periodontol.* – 2020. – №24 (6). – P. 554-559.

132. Dias S.B. *Effect of GaAIIAs low-level laser therapy on the healing of human palate mucosa after connective tissue graft harvesting: randomized clinical trial* / S.B. Dias, M.V. Fonseca, N.C. Dos Santos, I.F. Mathias, F.C. Martinho, M.S. Junior, M.A. Jardini, M.P. Santamaria // *Lasers Med Sci.* – 2015. – №30 (6). – P. 1695-1702.

133. Edel A. *Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva* // *J Clin Periodontol.* – 1974. – №1 (4). – P. 185-196.

134. Elgamily H. *Microbiological Assessment of Moringa Oleifera Extracts and Its Incorporation in Novel Dental Remedies against Some Oral Pathogenes* / H. Elgamily, A. Moussa, A. Elboraey, H. El-Sayed, M. Al-Moghazy, A. Abdalla // *Open Access Maced J Med Sci.* – 2016. – №4 (4). – P. 585-590.

135. Eming S.A. *Accelerated wound closure in mice deficient for interleukin-10* / S.A. Eming, S. Werner, P. Bugnon, C. Wickenhauser, L. Siewe, O. Ultermöhlen, J.M. Davidson, T. Krieg, A. Roers // *Am J Pathol.* – 2007. – №170 (1). – P. 188-202.

136. Femminella B. *Clinical Comparison of Platelet-Rich Fibrin and a Gelatin Sponge in the Management of Palatal Wounds After Epithelialized Free Gingival Graft Harvest: A Randomized Clinical Trial* / B. Femminella, M.C. Iaconi, M. Di Tullio, L. Romano, B. Sinjari, C. D'Arcangelo, P. De Ninis, M. Paolantonio // *J Periodontol.* – 2016. – №87 (2). – P. 103-113.

137. Fénelon M. What is the benefit of using amniotic membrane in oral surgery? A comprehensive review of clinical studies / M. Fénelon, S. Catros, J.C. Fricain // *Clin Oral Investig.* – 2018. – №22 (5). – P. 1881-1891.
138. Ferrari G. Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated apoptosis / G. Ferrari, B.D. Cook, V. Terushkin, G. Pintucci, P. Mignatti // *J Cell Physiol.* – 2009. – №219 (2). – P. 449-458.
139. Fetterolf D.E. Scientific and clinical support for the use of dehydrated amniotic membrane in wound management / D.E. Fetterolf, R.J. Snyder // *Wounds.* – 2012. – №24 (10). – P. 299-307.
140. Fickl S. Early wound healing and patient morbidity after single-incision vs. trap-door graft harvesting from the palate – a clinical study / S. Fickl, K.R. Fischer, Y. Jockel-Schneider, C.F. Stappert, U. Schlagenhauf, M. Kebschull // *Clin Oral Investig.* – 2014. – №18 (9). – P. 2213-2219.
141. Firat E.T. The effects of low-level laser therapy on palatal mucoperiosteal wound healing and oxidative stress status in experimental diabetic rats / E.T. Firat, A. Dağ, A. Günay, B. Kaya, M.Í. Keradede, B.E. Kanay, A. Ketani, O. Evliyaoğlu, E. Uysal // *Photomed Laser Surg.* – 2013. – №31 (7). – P. 315-321.
142. Firat E.T. The effect of low-level laser therapy on the healing of hard palate mucosa and the oxidative stress status of rats / E.T. Firat, A. Dağ, A. Günay, B. Kaya, M.Í. Keradede, B. Ersöz Kanay, A. Ketani, O. Evliyaoğlu, E. Uysal // *J Oral Pathol Med.* – 2014. – №43 (2). – P. 103-110.
143. Fischer N.G. Effect of Clinically Relevant CAD/CAM Zirconia Polishing on Gingival Fibroblast Proliferation and Focal Adhesion / N.G. Fischer, J. Wong, A. Baruth, D.R. Cerutis // *Materials (Basel).* – 2017. – №10 (12). – P. 1358.
144. Fujita T. Interleukin-8 induces DNA synthesis, migration and down-regulation of cleaved caspase-3 in cultured human gingival epithelial cells / T. Fujita, T. Yoshimoto, S. Matsuda, M. Kajiya, M. Kittaka, H. Imai, T. Iwata, Y. Uchida, H. Shiba, H. Kurihara // *J Periodontal Res.* – 2015. – №50 (4). – P. 479-485.

145. Galeano M. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse / M. Galeano, D. Altavilla, D. Cucinotta, G.T. Russo, M. Calò, A. Bitto, H. Marini, R. Marini, E.B. Adamo, P. Seminara, L. Minutoli, V. Torre, F. Squadrito // *Diabetes*. – 2004. – №53 (9). – P. 2509-2517.
146. Gillitzer R. Chemokines in cutaneous wound healing / R. Gillitzer, M. Goebeler // *J Leukoc Biol*. – 2001. – №69 (4). – P. 513-521.
147. Graves D.T. IL-1 plays a critical role in oral, but not dermal, wound healing / D.T. Graves, N. Nooh, T. Gillen, M. Davey, S. Patel, D. Cottrell, S. Amar // *J Immunol*. – 2001. – №167 (9). – P. 5316-5320.
148. Grippo A.J. 24-hour autonomic dysfunction and depressive behaviors in an animal model of social isolation: implications for the study of depression and cardiovascular disease / A.J. Grippo, C.S. Carter, N. McNeal, D.L. Chandler, M.A. Larocca, S.L. Bates, S.W. Porges // *Psychosom Med*. – 2011. – №73 (1). – P. 59-66.
149. Guo B. In vitro biocompatibility of biohybrid polymers membrane evaluated in human gingival fibroblasts / B. Guo, C. Tang, M. Wang, Z. Zhao, H.A. Shokoohi-Tabrizi, B. Shi, O. Andrukhov, X. Rausch-Fan // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. – 2020. – №108 (6). – P. 2590-2598.
150. Guo F. miR-218 regulates focal adhesion kinase-dependent TGF $\beta$  signaling in fibroblasts / F. Guo, D.E. Carter, A. Leask // *Mol Biol Cell*. – 2014. – №25 (7). – P. 1151-1158.
151. Guo S. Factors affecting wound healing / S. Guo, L.A. Dipietro // *J Dent Res*. – 2010. – №89 (3). – P. 219-229.
152. Häkkinen L. Cell biology of gingival wound healing / L. Häkkinen, V.J. Uitto, H. Larjava // *Periodontol 2000*. – 2000. – №24. – P. 127-152.
153. Häkkinen L. Distinct phenotype and therapeutic potential of gingival fibroblasts / L. Häkkinen, H. Larjava, B.P. Fournier // *Cytherapy*. – 2014. – №16 (9). – P. 1171-1186.
154. Hamed S. Fibronectin potentiates topical erythropoietin-induced wound repair in diabetic mice / S. Hamed, Y. Ullmann, D. Egozi, E. Daod, E. Hellou, M. Ashkar, A. Gilhar, L. Teot // *J Invest Dermatol*. – 2011. – №131 (6). – P. 1365-1374.

155. Hammad H.M. Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat-model: a clinical and histomorphometric study / H.M. Hammad, M.M. Hammad, I.N. Abdelhadi, M.S. Khalifeh // *Int J Dent Hyg.* – 2011. – №9 (1). – P. 9-16.
156. Han Z. Clinical evaluations of free gingival grafting before implant placement to increase keratinized tissue width in molar regions: A retrospective case series / Z. Han, Y. Wei, C. Wang, G. Yang, W. Hu, K.H. Chung // *Clin Oral Implants Res.* – 2021. – №32 (7). – P. 799-807.
157. Harris R.J. The connective tissue and partial thickness double pedicle graft: a predictable method of obtaining root coverage // *J Periodontol.* – 1992. – №63 (5). – P. 477-486.
158. Heise R. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo / R. Heise, C. Skazik, Y. Marquardt, K. Czaja, K. Sebastian, P. Kurschat, L. Gan, B. Denecke, S. Ekanayake-Bohlig, K.P. Wilhelm, H.F. Merc, J.M. Baron // *Skin Pharmacol Physiol.* – 2012. – №25 (5). – P. 241-248.
159. Iocono J.A. Interleukin-8 levels and activity in delayed-healing human thermal wounds / J.A. Iocono, K.R. Colleran, D.G. Remick, B.W. Gillespie, H.P. Ehrlich, W.L. Garner // *Wound Repair Regen.* – 2000. – №8 (3). – P. 216-225.
160. Ishida Y. The essential involvement of cross-talk between INF-gamma and TGF-beta in the skin wound-healing process / Y. Ishida, T. Kondo, T. Takayasu, Y. Iwakura, N. Mukaida // *J Immunol.* – 2004. – №172 (3). – P. 1848-1855.
161. Isogai R. The receptor for erythropoietin is present on cutaneous mast cells / R. Isogai, M. Takahashi, K. Aisu, Y. Horiuti, Y. Aragane, A. Kawada, T. Tezuka // *Arch Dermatol Res.* – 2006. – №297 (9). – P. 389-394.
162. Ito Y. Involvement of HMGB1 and RAGE in IL-1 $\beta$ -induced gingival inflammation / Y. Ito, U.K. Bhawal, T. Sasahira, T. Toyama, T. Sato, D. Matsuda, H. Nishikiori, M. Kobayashi, M. Sugiyama, N. Hamada, H. Arakawa, H. Kuniyasu // *Arch Oral Biol.* – 2012. – №57 (1). – P. 73-80.
163. Jain V. Role of platelet-rich-fibrin in enhancing palatal wound healing after free graft / V. Jain, M.G. Triveni, A.B. Kumar, D.S. Mehta // *Contemp Clin Dent.* – 2012. – №3 (Suppl. 2). – P. S240-243.



164. Javed F. Significance of the platelet-derived growth factor in periodontal tissue regeneration / F. Javed, M. Al-Askar, A. Al-Rasheed, K. Al-Hezaimi // Arch Oral Biol. – 2011. – №56 (12). – P. 1476-1484.
165. Jedrusik N. Nanofibered Gelatin-Based Nonwoven Elasticity Promotes Epithelial Histogenesis / N. Jedrusik, C. Meyen, G. Finkenzeller, G.B. Stark, S. Meskath, S.D. Schulz, T. Steinberg, P. Eberwein, S. Strassburg, P. Tomakidi // Adv Healthc Mater. – 2018. – №7 (10). – P. e1700895.
166. Kadkhoda Z. Effect of Amniotic Membrane Dressing on Pain and Healing of Palatal Donor Site: A Randomized Controlled Trial / Z. Kadkhoda, A. Tavakoli, S. Chokami Rafiei, F. Zolfaghari, S. Akbari // Int J Org Transplant Med. – 2020. – №11 (2). – P. 55-62.
167. Kan J.Y. Facial gingival tissue stability after connective tissue graft with single immediate tooth replacement in the esthetic zone: consecutive case report / J.Y. Kan, K. Rungcharassaeng, T. Morimoto, J. Lozada // J Oral Maxillofac Surg. – 2009. – №67 (11 Suppl). – P. 40-48.
168. Karadag A. Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis / A. Karadag, R. Ozdemir, A. Kurt, H. Parlakpinar, A. Polat, N. Vardi, E. Taslidere, A. Karaman // J Pediatr Surg. – 2015. – №50 (7). – P. 1119-1124.
169. Kaushik D. Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of Pinus roxburghii Sarg / D. Kaushik, A. Kumar, P. Kaushik, A.C. Rana // Adv Pharmacol Sci. – 2012. – №2012. – P. 245431.
170. Keceli H.G. Evaluation of palatal donor site haemostasis and wound healing after free gingival graft surgery / H.G. Keceli, B.U. Aylikci, S. Koseoglu, A. Dolgun // J Clin Periodontol. – 2015. – №42 (6). – P. 582-589.
171. Keskiner I. Effect of Photobiomodulation on Transforming Growth Factor- $\beta$ 1, Platelet-Derived Growth Factor-BB, and Interleukin-8 Release in Palatal Wounds After Free Gingival Graft Harvesting: A Randomized Clinical Study / I. Keskiner, M. Lutfioğlu, A. Aydogdu, N.I. Saygun, M.A. Serdar // Photomed Laser Surg. – 2016. – №34 (6). – P. 263-271.

172. Keswani S.G. Role of salivary vascular endothelial growth factor (VEGF) in palatal mucosal wound healing / S.G. Keswani, S. Balaji, L.D. Le, A. Leung, J.K. Parvadia, J. Frischer, S. Yamano, N. Taichman, T.M. Crombleholme // *Wound Repair Regen.* – 2013. – №21 (4). – P. 554-562.
173. Kikuchi K. HMGB1 as a therapeutic target in spinal cord injury: A hypothesis for novel therapy development / K. Kikuchi, H. Uchikado, N. Miura, Y. Morimoto, T. Ito, S. Tancharoen, K. Miyata, R. Sakamoto, C. Kikuchi, N. Iida, N. Shiomi, T. Kuramoto, N. Miyagi, K.I. Kawahara // *Exp Ther Med.* – 2011. – №2 (5). – P. 767-770.
174. Kim D.M. Periodontal soft tissue non-root coverage procedures: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop / D.M. Kim, R. Neiva // *J Periodontol.* – 2015. – №86 (2 Suppl). – P. S56-72.
175. Kim S.H. Bismuth subgallate as a topical haemostatic agent at the palatal wounds: a histologic study in dogs / S.H. Kim, V.A. Tramontina, V. Papalexiou, S.M. Luczszyn, A.A. De Lima, A.M. do Prado // *Int J Oral Maxillofac Surg.* – 2012. – №41 (2). – P. 239-243.
176. Kimura A. Influence of chemical peeling on the skin stress response system / A. Kimura, N. Kanazawa, H.J. Li, N. Yonei, Y. Yamamoto, F. Furukawa // *Exp Dermatol.* – 2012. – №21 Suppl. 1. – P. 8-10.
177. Kissa J. Augmentation of keratinized gingiva around dental implants / J. Kissa, W. El Kholti, Y. Laalou, M. El Farouki // *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* – 2017. – №118 (3). – P. 156-160.
178. Kogure T. Hepatic miR-29ab1 expression modulates chronic hepatic injury / T. Kogure, S. Costinean, I. Yan, C. Braconi, C. Croce, T. Patel // *J Cell Mol Med.* – 2012. – №16 (11). – P. 2647-2654.
179. Koschwanez H.E. The use of wound healing assessment methods in psychological studies: a review and recommendations / H.E. Koschwanez, E. Broadbent // *Br J Health Psychol.* – 2011. – №16 (Pt 1). – P. 1-32.

180. Kriegel A.J. The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury / A.J. Kriegel, Y. Liu, Y. Fang, X. Ding, M. Liang // *Physiol Genomics*. – 2012. – №44 (4). – P. 237-244.
181. Krieger J.R. Spatially localized recruitment of anti-inflammatory monocytes by SDF-1 $\alpha$ -releasing hydrogels enhances microvascular network remodeling / J.R. Krieger, M.E. Ogle, J. McFaline-Figueroa, C.E. Segar, J.S. Temenoff, E.A. Botchwey // *Biomaterials*. – 2016. – №77. – P. 280-290.
182. Krishnaiah D. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants / D. Krishnaiah, T. Devi, A. Bono, R. Sarbatly // *J Med Plants Res*. – 2009. – №3 (2). – P. 067-072.
183. Ksv R. Assessment of thickness of palatal masticatory mucosa and maximum graft dimensions at palatal vault associated with age and gender – a clinical study / R. Ksv, S. P, K. V, M. R, R.K. Alla, M. D // *J Clin Diagn Res*. – 2014. – №8 (5). – P. ZC09-13.
184. Kulkarni M.R. Platelet-rich fibrin as an adjunct to palatal wound healing after harvesting a free gingival graft: A case series / M.R. Kulkarni, B.S. Thomas, J.M. Varghese, G.S. Bhat // *J Indian Soc Periodontol*. – 2014. – №18 (3). – P. 399-402.
185. Lafzi A. The Clinical Evaluation of the Effects of Low-Level Laser Therapy on the Donor and Recipient Sites of the Free Gingival Graft: A Case Series / A. Lafzi, M. Kadkhodazadeh, S.M. Mojahedi, R. Amid, S. Shidfar, M.T. Baghani // *J Laser Med Sci*. – 2019. – №10 (4). – P. 355-360.
186. Langer B. The subepithelial connective tissue graft. A new approach to the enhancement of anterior cosmetics / B. Langer, L.J. Calagna // *Int J Periodontics Restorative Dent*. – 1982. – №2 (2). – P. 22-33.
187. Lee J.Y. Effect of low-level laser therapy on oral keratinocytes exposed to bisphosphonate / J.Y. Lee, I.R. Kim, B.S. Park, Y.D. Kim, I.K. Chung, J.M. Song, S.H. Shin // *Lasers Med Sci*. – 2015. – №30 (2). – P. 635-643.
188. Lee K. Chemical Regeneration of Wound Defects: Relevance to the Canine Palatal Mucosa and Cell Cycle Up-Regulation in Human Gingival Fibroblasts /

K. Lee, H. Ben Amara, S.C. Lee, R. Leesungbok, M.A. Chung, K.T. Koo, S.W. Lee // *Tissue Eng Regen Med.* – 2019. – №16 (6). – P. 675-684.

189. Leoni G. Wound repair: role of immune-epithelial interactions / G. Leoni, P.A. Neumann, R. Sumagin, T.L. Denning, A. Nusrat // *Mucosal Immunol.* – 2015. – №8 (5). – P. 959-968.

190. Long H. Preparation and characteristics of gelatin sponges crosslinked by microbial transglutaminase / H. Long, K. Ma, Z. Xiao, X. Ren, G. Yang // *Peer J.* – 2015. – №5. – P. e3665.

191. Lopatina T. Platelet-derived growth factor regulates the secretion of extracellular vesicles by adipose mesenchymal stem cells and enhances their angiogenic potential / T. Lopatina, S. Bruno, C. Tetta, N. Kalinina, M. Porta, G. Camussi // *Cell Commun Signal.* – 2014. – №12. – P. 26.

192. Lorenzana E.R. The single-incision palatal harvest technique: a strategy for esthetics and patient comfort / E.R. Lorenzana, E.P. Allen // *Int J Periodontics Restorative Dent.* – 2000. – №20 (3). – P. 297-305.

193. Luo R.M. Soft-Tissue Grafting Solutions / R.M. Luo, D. Chvartzaid, S.W. Kim, J.E. Portnof // *Dent Clin North Am.* – 2020. – №64 (2). – P. 435-451.

194. Mahmoudi H. Trichloroacetic acid as a treatment for persistent oral mucosal lesions in pemphigus vulgaris / H. Mahmoudi, K. Balighi, S. Tavakolpour, M. Daneshpazhooh, C. Chams-Davatchi // *J Am Acad Dermatol.* – 2019. – №80 (3). – P. e51-e52.

195. Mahn D.H. Modified Tunnel Technique and Double-Layer Acellular Dermal Matrix to Treat Multiple Teeth and Implant: 3.5-Year Results // *Compend Contin Educ Dent.* – 2020. – №41 (9). – P. e1-e4.

196. Martelloni M. Amniotic Membrane In Palatal Epithelial-Connective Tissue Reconstruction / M. Martelloni, G. Montagner, D. Trojan, R. Abate // *Int Medical Case Reports Journal.* – 2019. – №12. – P. 349-354.

197. McLeod D.E. Treatment of multiple areas of gingival recession using a simple harvesting technique for autogenous connective tissue graft / D.E. McLeod, E. Reyes, G. Branch-Mays // *J Periodontol.* – 2009. – №80 (10). – P. 1680-1687.

198. Meckmongkol T.T. The fibronectin synergy site modulates TGF-beta-dependent fibroblast contraction / T.T. Meckmongkol, R. Harmon, P. McKeown-Longo, L. Van De Water // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2007. – №360 (4). – P. 709-714.
199. Mermet I. Use of amniotic membrane transplantation in the treatment of venous leg ulcers / I. Mermet, N. Pottier, J.M. Sainthillier, C. Malugani, S. Cairey-Remonnay, S. Maddens, D. Riethmuller, P. Tiberghien, P. Humbert, F. Aubin // *Wound Repair Regen.* – 2007. – №15 (4). – P. 459-464.
200. Mohyeldin A. Erythropoietin signaling promotes invasiveness of human head and neck squamous cell carcinoma / A. Mohyeldin, H. Lu, C. Dalgard, S.Y. Lai, N. Cohen, G. Acs, A. Verma // *Neoplasia.* – 2005. – №7 (5). – P. 537-543.
201. Morimoto Y. Tumor necrosis factor-alpha stimulates gingival epithelial cells to release high mobility-group box 1 / Y. Morimoto, K.I. Kawahara, S. Tancharoen, K. Kikuchi, T. Matsuyama, T. Hashiguchi, Y. Izumi, I. Maruyama // *J Periodontal Res.* – 2008. – №43 (1). – P. 76-83.
202. Moslemi N. Effect of 660nm low power laser on pain and healing in palatal donor sites: a randomized controlled clinical trial // N. Moslemi, M. Heidari, R. Fekrazad, H. Nokhbatolfoghahaie, S. Yaghobee, A. Shamschiri, M. Paknejad // *J Dent Med.* – 2014. – №27 (1). – P. 71-77.
203. Mosser D.M. Exploring the full spectrum of macrophage activation / D.M. Mosser, J.P. Edwards // *Nat Rev Immunol.* – 2008. – №8 (12). – P. 958-969.
204. Moura M.C. Multi-effect of the water-soluble *Moringa oleifera* lectin against *Serratia marcescens* and *Bacillus* sp.: antibacterial, antibiofilm and anti-adhesive properties / M.C. Moura, D.S. Trentin, T.H. Napoleão, M. Primon-Barros, A.S. Xavier, N.P. Carneiro, P.M.G. Paiva, A.J. Macedo, L.C.B.B. Coelho // *J Appl Microbiol.* – 2017. – №123 (4). – P. 861-874.
205. Nooh N. Healing is delayed in oral compared to dermal excisional wounds / N. Nooh, D.T. Graves // *J Periodontol.* – 2003. – №74 (2). – P. 242-246.
206. Ogle M.E. Monocytes and macrophages in tissue repair: Implications for immunoregenerative biomaterial design / M.E. Ogle, C.E. Segar, S. Sridhar, E.A. Botchwey // *Exp Biol Med (Maywood).* – 2016. – №241 (10). – P. 1084-1097.

207. Olingy C.E. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury / C.E. Olingy, C.L. San Emeterio, M.E. Ogle, J.R. Krieger, A.C. Bruce, D.D. Pfau, B.T. Jordan, S.M. Peirce, E.A. Botchwey // *Sci Rep.* – 2017. – №7 (1). – P. 447.
208. Oluduro A.O. Evaluation of Antimicrobial properties and nutritional potentials of *Moringa oleifera* Lam. leaf in South-Western Nigeria // *Malays J Microbiol.* – 2012. – №8 (2). – P. 59-67.
209. Palumbo R. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation / R. Palumbo, M. Sampaolesi, F. De Marchis, R. Tonlorenzi, S. Colombetti, A. Mondino, G. Cossu, M.E. Bianchi // *J Cell Biol.* – 2004. – №164 (3). – P. 441-449.
210. Pastar I. Induction of specific microRNAs inhibits cutaneous wound healing / I. Pastar, A.A. Khan, O. Stojadinovic, E.A. Lebrun, M.C. Medina, H. Brem, R.S. Kirsner, J.J. Jimenez, C. Leslie, M. Tomic-Canic // *J Biol Chem.* – 2012. – №287 (35). – P. 29324-29335.
211. Patel P.V. Cytological assessment of healing palatal donor site wounds and grafted gingival wounds after application of ozonated oil: an eighteen-month randomized controlled clinical trial / P.V. Patel, S. Kumar, G.D. Vidya, A. Patel, J.C. Holmes, V. Kumar // *Acta Cytol.* – 2012. – №56 (3). – P. 277-284.
212. Polimeni G. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration / G. Polimeni, A.V. Xiropaidis, U.M. Wikesjö // *Periodontol 2000.* – 2006. – №41. – P. 30-47.
213. Primo M.N. Regulation of pro-inflammatory cytokines TNF $\alpha$  and IL24 by microRNA-203 in primary keratinocytes / M.N. Primo, R.O. Bak, B. Schibler, J.G. Mikkelsen // *Cytokine.* – 2012. – №60 (3). – P. 741-748.
214. Puri K. 44-year journey of palatal connective tissue graft harvest: A narrative review / K. Puri, A. Kumar, M. Khatri, M. Bansal, M. Rehan, S.T. Siddeshappa // *J Indian Soc Periodontol.* – 2019. – №23 (5). – P. 395-408.
215. Raetzke P.B. Covering localized areas of root exposure employing the “envelope” technique // *J Periodontol.* – 1985. – №56 (7). – P. 397-402.

216. Ranzato E. HMGB1 promotes scratch wound closure of HaCaT keratinocytes via ERK1/2 activation / E. Ranzato, M. Patrone, M. Pedrazzi, B. Burlando // *Mol Cell Biochem.* – 2009. – №332 (1-2). – P. 199-205.
217. Ranzato E. Hmgb1 promotes wound healing of 3T3 mouse fibroblasts via RAGE-dependent ERK1/2 activation / E. Ranzato, M. Patrone, M. Pedrazzi, B. Burlando // *Cell Biochem Biophys.* – 2010. – №57 (1). – P. 9-17.
218. Rasperini G. Interproximal attachment gain: The challenge of periodontal regeneraton / G. Rasperini, L. Tavelli, S. Barootchi, M.K. McGuire, G. Zucchelli, G. Pagni, M. Stefanini, H.L. Wang, W.V. Giannobile // *J Periodontol.* – 2021. – №92 (7). – P. 931-946.
219. Reino D.M. Palatal harvesting technique modification for better control of the connective tissue graft dimensions / D.M. Reino, A.B. Novaes Jr, M.F. Grisi, L.P. Maia, S.L. de Souza // *Braz Dent J.* – 2013. – №24 (6). – P. 565-568.
220. Rojas M.A. Early wound healing outcomes after regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivatives or guided tissue regeneration: a systematic review / M.A. Rojas, L. Marini, A. Pilloni, P. Sahrman // *BMC Oral Health.* – 2019. – №19 (1). – P. 76.
221. Roman A. Patient-centered outcomes after subepithelial connective tissue grafts and coronally advanced flaps / A. Roman, R. Balazsi, R.S. Câmpian, A. Soancă, R. Moldovan, A. Sculean, S.I. Stratul // *Quintessence Int.* – 2012. – №43 (10). – P. 841-851.
222. Rose J.B. Gelatin-Based Materials in Ocular Tissue Engineering / J.B. Rose, S. Pacelli, A.J.E. Haj, H.S. Dua, A. Hopkinson, L.J. White, F.R.A.J. Rose // *Materials (Basel).* – 2014. – №7 (4). – P. 3106-3135.
223. Rozman P. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries / P. Rozman, Z. Bolta // *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* – 2007. – №16 (4). – P. 156-165.
224. Safavi S.M. Effects of low-level He-Ne laser irradiation on the gene expression of IL-1beta, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta, bFGF, and PDGF in rat's gingiva / S.M. Safavi, B. Kazemi, M. Esmaeili, A. Fallah, A. Modarresi, M. Mir // *Lasers Med Sci.* – 2008. – №23 (3). – P. 331-335.



225. Sahrakary M. Treatment by *Moringa oleifera* extract can reduce gingival inflammatory cytokines in the rat periodontal model / M. Sahrakary, V. Nazemian, M. Aghaloo, A. Akbari, M. Shadnoush, B. Nasser, J. Zaringhalam // *Physiol Pharmacol.* – 2017. – №21 (2). – P. 102-109.
226. Santamaria M.P. Connective tissue graft plus resin-modified glass ionomer restoration for the treatment of gingival recession associated with non-carious cervical lesion: a randomized-controlled clinical trial / M.P. Santamaria, G.M. Ambrosano, M.Z. Casati, F.H. Nociti Júnior, A.W. Sallum, E.A. Sallum // *J Clin Periodontol.* – 2009. – №36 (9). – P. 791-798.
227. Sayan H. Erythropoietin stimulates wound healing and angiogenesis in mice / H. Sayan, V.H. Ozacmak, A. Guven, R.G. Aktas, I.D. Ozacmak // *J Invent Surg.* – 2006. – №19 (3). – P. 163-173.
228. Saygun I. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin-like growth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts / I. Saygun, N. Nizam, A.U. Ural, M.A. Serdar, F. Avcu, T.F. Tözüm // *Photomed Laser Surg.* – 2012. – №30 (3). – P. 149-154.
229. Scheyer E.T. Periodontal soft tissue non-root coverage procedures: a consensus report from the AAP Regeneration Workshop / E.T. Scheyer, M. Sanz, S. Dibart, H. Greenwell, V. John, D.M. Kim, L. Langer, R. Neiva, G. Rasperini // *J Periodontol.* – 2015. – №86 (2 Suppl). – P. S73-76.
230. Schmidt A.M. Receptor for age (RAGE) is a gene within the major histocompatibility class III region: implications for host response mechanisms in homeostasis and chronic disease / A.M. Schmidt, D.M. Stern // *Front Biosci.* – 2001. – №6. – P. D1151-1160.
231. Schmitt C.M. Long-term outcomes after vestibuloplasty with a porcine collagen matrix (Mucograft<sup>®</sup>) versus the free gingival graft: a comparative prospective clinical trial / C.M. Schmitt, T. Moest, R. Lutz, F. Wehrhan, F.W. Neukam, K.A. Schlegel // *Clin Oral Implants Res.* – 2016. – №27 (11). – P. e125-e133.
232. Schulz S. Nonwoven-based gelatin/polycaprolactone membrane proves suitability in a preclinical assessment for treatment of soft tissue defects / S. Schulz, M.

Angarano, M. Fabritius, R. Mülhaupt, M. Dard, M. Obrecht, P. Tomakidi, T. Steinberg // *Tissue Eng Part A*. – 2014. – №20 (13-14). – P. 1935-1947.

233. Sculean A. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants / A. Sculean, R. Gruber, D.D. Bosshardt // *J Clin Periodontol*. – 2014. – №41 (Suppl 15). – P. S6-22.

234. Sezgin Y. Evaluating the Effects of a Topical Preparation with Dexpantenol, Silbiol, Undecylenic Acid, and Lidocaine on Palatal Mucosa Wound Healing in a Rat Model / Y. Sezgin, M. Bilgin Çetin, Ş. Bulut, N.Ö. Alptekin, P. Börçek // *Balkan Med J*. – 2019. – №36 (2). – P. 88-95.

235. Shah A. Efficacy of free gingival graft in the augmentation of keratinized tissue around implants: A prospective clinical study / A. Shah, S.V. Kothiwale // *J Indian Soc Periodontol*. – 2021. – №25 (4). – P. 330-334.

236. Shanmugam M. Clinical and histological evaluation of two dressing materials in the healing of palatal wounds / M. Shanmugam, T.S. Kumar, K.V. Arun, R. Arun, S.J. Karthik // *J Indian Soc Periodontol*. – 2010. – №14 (4). – P. 241-244.

237. Shayesteh Y.S. The effect of platelet-rich plasma on healing of palatal donor site following connective tissue harvesting: a pilot study in dogs / Y.S. Shayesteh, N. Eshghyar, N. Moslemi, M.M. Dehghan, P. Motahary, Z. Ghobadi, B. Golestan // *Clin Implant Dent Relat Res*. – 2012. – №14 (3). – P. 428-433.

238. Siddhuraju P. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves / P. Siddhuraju, K. Becker // *J Agric Food Chem*. – 2003. – №51 (8). – P. 2144-2155.

239. Silva C.O. Free gingival grafts: graft shrinkage and donor-site healing in smokers and non-smokers / C.O. Silva, P. Ribeiro Edel, A.W. Sallum, D.N. Tatakis // *J Periodontol*. – 2010. – №81 (5). – P. 692-701.

240. Skoog S.A. Biological responses to immobilized microscale and nanoscale surface topographies / S.A. Skoog, G. Kumar, R.J. Narayan, P.L. Goering // *Pharmacol Ther*. – 2018. – №182. – P. 33-55.

241. Suarez M. Structure-functional characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide / M. Suarez, M. Haenni, S. Canarelli, F. Fisch, P. Chodanowski, C. Servis, O. Michielin, R. Freitag, P. Moreillon, N. Mermoud // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2005. – №49 (9). – P. 3847-3857.
242. Sullivan H.C. Free autogenous gingival grafts. 3. Utilization of grafts in the treatment of gingival recession / H.C. Sullivan, J.H. Atkins // *Periodontics.* – 1968. – №6 (4). – P. 152-160.
243. Tamaki N. Hydrogen-Rich Water Intake Accelerates Oral Palatal Wound Healing via Activation of the Nrf2/Antioxidant Defense Pathways in a Rat Model / N. Tamaki, R.C. Orihuela-Campos, M. Fukui, H.O. Ito // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – №2016. – Article ID 5679040.
244. Tancharoen S. HMGB1 Promotes Intraoral Palatal Wound Healing through RAGE-Dependent Mechanisms / S. Tancharoen, S. Gando, S. Binita, T. Nagasato, K. Kikuchi, Y. Nawa, P. Dararat, M. Yamamoto, S. Narkpinit, I. Maruyama // *Int J Mol Sci.* – 2016. – №17 (11). – P. 1961.
245. Tavelli L. Peri-implant soft tissue phenotype modification and its impact on peri-implant health: A systematic review and network meta-analysis / L. Tavelli, S. Barootchi, G. Avila-Ortiz, I.A. Urban, W.V. Giannobile, H.L. Wang // *J Periodontol.* – 2021. – №92 (1). – P. 21-44.
246. Thoma D.S. Effects of soft tissue augmentation procedures on peri-implant health or disease: A systematic review and meta-analysis / D.S. Thoma, N. Naenni, E. Figuero, C.H.F. Hämmerle, F. Schwarz, R.E. Jung, I. Sanz-Sánchez // *Clin Oral Implants Res.* – 2018. – №29 (Suppl 15). – P. 32-49.
247. Toledano M. State of the Art on Biomaterials for Soft Tissue Augmentation in the Oral Cavity. Part I: Natural Polymers-Based Biomaterials / M. Toledano, M. Toledano-Osorio, Á. Carrasco-Carmona, C. Vallecillo, C.D. Lynch, M.T. Osorio, R. Osorio // *Polymers (Basel).* – 2020. – №12 (8). – P. 1850.
248. Umeki H. Leptin promotes wound healing in the oral mucosa / H. Umeki, R. Tokuyama, S. Ide, M. Okubo, S. Tadokoro, M. Tezuka, S. Tatehara, K. Satomura // *PLoS One.* – 2014. – №9 (7). – P. e101984.

249. Usumez A. Effects of laser irradiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing / A. Usumez, B. Cengiz, S. Oztuzcu, T. Demir, M.H. Aras, N. Gutknecht // *Lasers Med Sci.* – 2014. – №29 (6). – P. 1807-1813.
250. Vallecillo C. In Vitro Biodegradation Pattern of Collagen Matrices for Soft Tissue Augmentation / C. Vallecillo, M. Toledano-Osorio, M. Vallecillo-Rivas, M. Toledano, R. Osorio // *Polymers (Basel).* – 2021. – №13 (16). – P. 2633.
251. Veríssimo A.H. Comparative analysis of the hemostatic, analgesic and healing effects of cyanoacrylate on free gingival graft surgical wounds in donor and recipient areas: a systematic review / A.H. Veríssimo, A.K.C. Ribeiro, A.R.L.A. Martins, B.C.V. Gurgel, R.D.A.U. Lins // *J Mater Sci Mater Med.* – 2021. – №32 (9). – P. 98.
252. Viticchiè G. MicroRNA-203 contributes to skin re-epithelialization / G. Viticchiè, A.M. Lena, F. Cianfarani, T. Odorisio, M. Annicchiarico-Petruzzelli, G. Melino, E. Candi // *Cell Death Dis.* – 2012. – №3 (11). – P. e435.
253. Vlachodimou E. Is There an Association between the Gingival Phenotype and the Width of Keratinized Gingiva? A Systematic Review / E. Vlachodimou, I. Fragkioudakis, I. Vouros // *Dent J (Basel).* – 2021. – №9 (3). – P. 34.
254. Walburn J. Psychological stress and wound healing in humans: a systematic review and meta-analysis / J. Walburn, K. Vedhara, M. Hankins, L. Rixon, J. Weinman // *J Psychosom Res.* – 2009. – №67 (3). – P. 253-271.
255. Werner S. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines / S. Werner, R. Grose // *Physiol Rev.* – 2003. – №83 (3). – P. 835-870.
256. Wessel J.R. Patient outcomes following subepithelial connective tissue graft and free gingival graft procedures / J.R. Wessel, D.N. Tatakis // *J Periodontol.* – 2008. – №79 (3). – P. 425-430.
257. Wong J.W. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red Duroc pig model and humans / J.W. Wong, C. Gallant-Behm, C. Wiebe, K. Mak, D.A. Hart, H. Larjava, L. Häkkinen // *Wound Repair Regen.* – 2009. – №17 (5). – P. 717-729.

258. Wu Q. Evaluation of the efficacy of keratinized mucosa augmentation techniques around dental implants: a systematic review. / Q. Wu, Y. Qu, P. Gong, T. Wang, T. Gong, Y. Man // *J Prosthet Dent.* – 2015. – №113 (5). – P. 383-390.
259. Yaghobee S. Effect of Topical Erythropoietin (EPO) on palatal wound healing subsequent to Free Gingival Grafting (FGG) / S. Yaghobee, N. Rouzmeh, H. Aslroosta, S. Mahmoodi, A. Khorsand, M.J. Kharrazifard // *Braz Oral Res.* – 2018. – №32. – P. e55.
260. Yang L. Social isolation impairs oral palatal wound healing in sprague-dawley rats: a role for miR-29 and miR-203 via VEGF suppression / L. Yang, C.G. Engeland, B. Cheng // *PLoS One.* – 2013. – №8 (8). – P. e72359.
261. Yen C.A. Effects of platelet concentrate on palatal wound healing after connective tissue graft harvesting / C.A. Yen, T.J. Griffin, W.S. Cheung, J. Chen // *J Periodontol.* – 2007. – №78 (4). – P. 601-610.
262. Zhu T. Effects of dimethyloxalyglycine on wound healing of palatal mucosa in a rat model / T. Zhu, H.C. Park, K.M. Son, H.C. Yang // *BMC Oral Health.* – 2015. – №15. – P. 60.
263. Zucchelli G. Does the dimension of the graft influence patient morbidity and root coverage outcomes? A randomized controlled clinical trial / G. Zucchelli, I. Mounsiff, C. Mazzotti, L. Montebugnoli, M. Sangiorgi, M. Mele, M. Stefanini // *J Clin Periodontol.* – 2014. – №41 (7). – P. 708-716.
264. Zucchelli G. Autogenous soft tissue grafting for periodontal and peri-implant plastic surgical reconstruction / G. Zucchelli, L. Tavelli, M.K. McGuire, G. Rasperini, S.E. Feinberg, H.L. Wang, W.V. Giannobile // *J Periodontol.* – 2020. – №91 (1). – P. 9-16.
265. Zuhr O. The addition of soft tissue replacement grafts in plastic periodontal and implant surgery: critical elements in design and execution / O. Zuhr, D. Bäumer, M. Hürzeler // *J Clin Periodontol.* – 2014. – №41 Suppl 15. – P. S.123-142.