

РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦЕССИИ ДЕСНЫ

DOI: 10.17691/stm2018.10.4.11

УДК 616.311.2–003.93–085

Поступила 8.06.2018 г.



С.П. Рубникович, д.м.н., профессор, зав. кафедрой ортопедической стоматологии и ортодонтии с курсом детской стоматологии¹;

Ю.Л. Денисова, д.м.н., профессор кафедры терапевтической стоматологии²;

Т.Э. Владимирская, к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель отдела общей патологии¹;

В.А. Андреева, к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии с курсом детской стоматологии¹;

З.Б. Квачева, к.б.н., ведущий научный сотрудник³;

Г.Ю. Панасенкова, аспирант кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии с курсом детской стоматологии¹;

И.Д. Волотовский, д.б.н., академик НАН Беларуси; зав. лабораторией молекулярной биологии клетки³

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, ул. П. Бровки, 3, Минск, Беларусь, 220013;

²Белорусский государственный медицинский университет, проезд Дзержинского, 83, Минск, Беларусь, 220116;

³Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, Минск, Беларусь, 220072

Цель исследования — оценить возможности применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и биопластического материала «Коллост» в лечении рецессии десны по данным морфологических изменений в тканях патологически трансформированного пародонта в эксперименте.

Материалы и методы. Для эксперимента в качестве моделей использовали рандомбредных самок белых крыс (n=60). Оперативное вмешательство выполняли на верхней и нижней челюстях крыс в области резцов. Перед началом исследования у одной особи в стерильных условиях производили забор жировой ткани в объеме 1–2 мл для получения аллогенных МСК.

Все животные были разделены на 5 групп по 10 крыс в каждой в зависимости от планируемого метода лечения: 1-я — экспериментальная рецессия десны без лечения; 2-я — физиологический раствор; 3-я — гель «Коллост» 7%; 4-я — МСК; 5-я — МСК и гель «Коллост» 7%. Контрольную группу составили 10 лабораторных животных со здоровой десной — интактные крысы. Создание модели экспериментальной рецессии десны осуществляли путем механического иссечения тканей пародонта V-образной формы.

Результаты. Биопластический коллагеновый материал «Коллост» в изолированном виде в процессе биодеградации служит «матриксом» для образования собственной соединительной ткани, обеспечивает адгезию стволовых клеток и их трансформацию в про- и фибробласты. Он способствует уменьшению рецессии десны и глубины десневого кармана, стимулирует процесс эпителизации. Инъекция суспензии клеточного трансплантата в физиологическом растворе активирует процессы клеточной пролиферации и трансформации клеток фибробластного дифферона. Суспензия клеточного трансплантата на стерильном биопластическом коллагеновом материале «Коллост» усиливает эффекты геля и стволовых клеток, способствует нивелированию атрофических и дистрофических изменений десны, усилению механической компоненты, уменьшению рецессии десны и глубины десневого кармана.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки; «Коллост»; рецессия десны; болезни пародонта.

Как цитировать: Rubnikovich S.P., Denisova Y.L., Vladimirskaia T.E., Andreyeva V.A., Kvacheva Z.B., Panasenкова G.Y., Volotovskiy I.D. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 94–104, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.11>

English

Regenerative Cell Technologies for Gingival Recession Treatment

S.P. Rubnikovich, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Orthopedic Dentistry and Orthodontics with a Course of Children Dentistry¹;

Y.L. Denisova, MD, DSc, Professor, Department of Therapeutic Dentistry²;

T.E. Vladimirskaia, PhD, Leading Researcher, Head of the General Pathology Unit¹;

Для контактов: Рубникович Сергей Петрович, e-mail: rubnikovichs@mail.ru

V.A. Andreyeva, MD, PhD, Associate Professor, Department of Orthopedic Dentistry and Orthodontics with a Course of Children Dentistry¹;

Z.B. Kvacheva, PhD, Leading Researcher²;

G.Y. Panasenkov, PhD Student, Department of Orthopedic Dentistry and Orthodontics with a Course of Children Dentistry¹;

I.D. Volotovskiy, DSc, Academician of the National Academy of Sciences of Belarus; Head of the Laboratory of Cell Molecular Biology³

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, 3 P. Brovki St., Minsk, 220013, Republic of Belarus;

²Belarusian State Medical University, 83 Dzerzhinsky Avenue, Minsk, 220116, Republic of Belarus;

³Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, 27 Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Republic of Belarus

The aim of the study was to assess experimentally the possibility of using mesenchymal stem cells (MSC) and bioplastic material Collost for gingival recession treatment based on the data of morphological alterations in the tissues of pathologically transformed periodontium.

Materials and Methods. Random-bred white female rats (60 specimens) were used as a model in the experiment. The operative intervention was performed in the area of incisors of the upper and lower rat jaws. Before the investigations, 1–2 ml of the adipose tissue were harvested from one specimen under sterile conditions in order to obtain allogeneic mesenchymal stem cells.

All animals were divided into 5 groups (10 rats in each group) depending on the selected method of treatment: group 1 — experimental gingival recession without treatment; group 2 — treatment with physiological solution; group 3 — experimental gingival recession treatment with 7% Collost gel; group 4 — experimental gingival recession treatment with MSC; group 5 — experimental gingival recession treatment with MSC and 7% Collost gel. The control group, intact rats, consisted of 10 laboratory animals with a healthy gingiva. The creation of a model of the experimental gingival recession was carried out by mechanical V-shaped excision of periodontal tissues.

Results. The isolated form of 7% Collost gel (a bioplastic collagen material) serves in the process of biodegradation as a matrix for the formation of the native connective tissue, provides adhesion of the stem cells and their transformation into pro- and fibroblasts. 7% Collost gel facilitates the reduction of gingival recession and gingival pocket depth, stimulates the process of epithelization. Injections of cell transplant suspension in physiological solution activate the processes of fibroblast differon cell proliferation and cell transformation. The cell transplant suspension in the sterile bioplastic 7% Collost gel enhances the gel and stem cell effects, contributes to the elimination of the atrophic and dystrophic changes in the gums, increase of mechanical strength, reduction of gingival recession and gingival pocket depth.

Key words: mesenchymal stem cells; Collost; gingival recession; periodontal disease.

Введение

Поиск эффективных методов лечения заболеваний пародонта в настоящее время является актуальной проблемой современной стоматологии. С одной стороны, это обусловлено по-прежнему высокой распространенностью данного заболевания у населения, в том числе у лиц молодого возраста, с другой — недостаточной эффективностью предлагаемых современных средств и методов лечения [1, 2].

По данным ВОЗ, распространенность болезней пародонта достигает 90–95% у взрослого населения, в Республике Беларусь среди 35–44-летних жителей она составляет 94,8% [3]. Рецессия десны является одной из распространенных форм патологии тканей пародонта и по данным эпидемиологических обследований, проведенных в республике, регистрируется в 9,7% случаев у 15-летних пациентов и в 99,3% случаев — у взрослых [4, 5].

В настоящее время существуют различные методы лечения рецессии десны с использованием комплекса терапевтических, хирургических, ортодонтических и ортопедических мероприятий, однако результаты наблюдений не свидетельствуют о длительном и устойчивом восстановлении тканей пародонта [2, 6].

Перспективными направлениями современной науки являются исследование возможности применения для регенерации тканей пародонта аутологичных и аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), разработка новых методов восстановительной терапии и внедрение их в клиническую стоматологию, что позволит повысить эффективность лечения болезней пародонта и улучшить качество жизни пациентов [7–13]. В этом направлении специалистами многих стран проводятся разноплановые исследования, успех которых в значительной степени зависит от выбора экспериментальной модели [14–19].

В настоящее время одним из современных подходов к восстановлению тканей пародонта является применение биопластического коллагенового материала «Коллост» в качестве барьерного матрикса [20]. Гелевая форма биоматериала «Коллост» широко используется в общехирургической практике для регенерации мягких тканей в лечении хронических раневых дефектов кожи различной этиологии [21–23]. Применение коллагенового геля «Коллост» в лечении рецессии десны, в особенности в качестве носителя в тканеинженерных конструкциях, рассматривается как перспективный метод.

Все вышеизложенное указывает на целесообраз-

ность проведения аргументированных экспериментально-клинических исследований по применению в стоматологии МСК на коллагеновом геле «Коллост», направленных на активацию процессов восстановления в тканях пародонта и позволяющих повысить эффективность лечения пациентов с рецессией десны.

Цель исследования — оценить характер морфологических изменений в тканях патологически измененного пародонта при использовании для лечения рецессии десны биотрансплантата на основе мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, иммобилизованных на коллагеновом носителе «Коллост», в эксперименте на животных.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проводилось на базе Научно-исследовательской лаборатории Белорусской медицинской академии последипломного образования. Оперативное вмешательство выполняли на верхней и нижней челюстях крыс в области резцов.

Для эксперимента в качестве модели использовали нелинейных рандомбредных беспородных самок белых крыс (n=60). Масса тела животных составляла 200,0–250,0 г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с санитарно-гигиеническими правилами, утвержденными в Республике Беларусь, а также согласно международным правилам «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Research Council, 2011) и этическим принципам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006).

На 1-м этапе исследований у 50 лабораторных животных хирургическим путем была сформирована экспериментальная модель рецессии десны, 10 крыс оставались интактными на протяжении всего срока наблюдений.

Модель экспериментальной рецессии десны у животных создавали на вестибулярной поверхности в области резцов и в области зубодесневого сосочка на верхней и нижней челюстях справа после предварительной анестезии. Обезболивания достигали внутримышечным введением наркотических веществ (фентанил 0,005% + дроперидол 0,25% в соотношении 1:2 в дозе 0,3 мл на 100 г массы тела животного).

Оперативные вмешательства осуществляли путем механического иссечения тканей пародонта V-образной формы с вестибулярной поверхности твердосплавным шаровидным бором с использованием портативного микромотора. Зубодесневой сосочек между резцами иссекали вначале твердосплавным шаровидным бором, а затем скальпелем с целью формирования «черных треугольников».

До начала проведения экспериментальных исследований у одной особи в стерильных условиях производили забор жировой ткани в объеме 1–2 мл для получения аллогенных МСК. Выделение и культивиро-

вание МСК, а также создание трансплантатов выполняли в лабораторных условиях на базе Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

На 2-м этапе исследований на 10-е сутки после создания моделей экспериментальной рецессии десны и завершения процесса эпителизации лабораторные животные были распределены на группы в соответствии с проводимой терапией:

1-я группа (n=10) — сформирована рецессия десны без дальнейшего лечения;

2-я группа (n=10) — проведены инъекции физиологического раствора в ткани десны;

3-я группа (n=10) — проведены инъекции стерильного биопластического коллагенового материала «Коллост» 7% в ткани десны;

4-я группа (n=10) — проведены инъекции суспензии МСК жировой ткани в физиологическом растворе в ткани десны;

5-я группа (n=10) — проведены инъекции суспензии МСК жировой ткани в стерильном биопластическом коллагеновом материале «Коллост» 7% в ткани десны.

Животных выводили из эксперимента по 5 особей из каждой группы через 24 и 38 сут от момента формирования рецессии десны (14-е и 28-е сутки после начала исследования) с соблюдением принципов биоэтики (в соответствии со стандартами GLP) на фоне внутривенного тиопенталового наркоза из расчета 1 мл 5% тиопентала натрия на 100 г массы животного. Забирали биоптат тканей комплекса зуб–ткани пародонта–костная ткань с целью проведения патоморфологических исследований.

В ходе эксперимента изучали челюстно-зубодесневой блок верхней и нижней челюстей крыс. Иссеченные участки фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 48 ч. Декальцинацию препаратов проводили смесью муравьиной и соляной кислот, а затем подвергали стандартной гистотехнической обработке, после которой из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий осуществляли с помощью микроскопов Axio Imager (Carl Zeiss, Германия) и DMLS с программным обеспечением (Leica, Германия).

Результаты

Эффективность использования биотрансплантата на основе МСК, иммобилизованных на коллагеновом носителе «Коллост» 7%, оценивали путем анализа характера морфологических изменений в тканях пародонта, в которых хирургическим путем была сформирована экспериментальная модель рецессии десны.

Морфологическая картина тканей интактных крыс. На верхней челюсти десневой канал — короткий, без содержимого. Дно канала представлено плоскими эпителиоидными клетками, перифокально — с

тонкостенными капиллярами в ткани прилежащей собственной пластинки (СП) десны. Эпителий прикрепления отслоен, представлен узким тяжем фиброзной ткани и эпителиоидных клеток. Свободная часть десны состоит из многослойного плоского эпителия (МПЭ), ороговевающего, с узкой полосой расслоенного и сегментарно отслоенного рогового вещества и мелкими глыбками кератогиалина в цитоплазме клеток зернистого слоя. Отмечаются бледность цитоплазмы базальных клеток, сглаженные и широкие эпителиальные гребешки по наружному краю свободной части десны. СП свободной части десны — рыхлая, малоклеточная (фиброциты, малочисленные фибробласты и единичные мелкие недифференцированные клетки), с диффузно и редко расположенными мелкими группами или поодиночке расположенными полнокровными капиллярами, без признаков воспалительной инфильтрации. Зафиксирована умеренно-клеточная пародонтальная связка, интегрированная с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти интактных крыс наблюдается десневой карман умеренной глубины, без содержимого в просвете. Дно канала — эпителиоциты и рыхлая фиброзная ткань. Эпителий прикрепления представлен узкой полоской уплощенных эпителиальных клеток. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с узкой полосой рогового слоя. Эпителиальные гребешки — короткие и широкие или узкие и удлиненные по наружной поверхности десны. СП свободной части десны состоит из плотной неоформленной малоклеточной (фиброциты, изредка фибробласты) волокнистой ткани с диффузно расположенными узкими капиллярами. Пародонтальная связка — умеренно-клеточная, интегрирована с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На 14-е сутки в 1-й группе (рецессия десны без дальнейшего лечения) на верхней челюсти десневой карман — глубокий (рис. 1, а). Дистальная часть (дно) кармана умеренно расширена, отмечается очаговая пролиферация эпителия. Эпителий прикрепления представлен узкой полоской уплощенных эпителиальных клеток. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с неравномерно узкой полоской рогового слоя. Отмечается минимальная сегментарная пролиферация клеток базального

слоя эпителия. В перифокальном отделе пародонта наблюдаются умеренная фиброплазия с умеренным серозно-продуктивным воспалением с переходом на пародонтальную связку и интегрированный с ней периост альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти в этой группе (рис. 1, б) десневая борозда умеренно глубокая, десневой канал слегка расширен. Дистальная часть десневого канала умеренно расширена, дно в отдельных случаях утолщено за счет гиперплазии МПЭ с папилломатозом. Эпителий прикрепления оторван, представлен узким тяжем уплощенных эпителиальных клеток. МПЭ свободной части десны — ороговевающий, с неравномерно узкой полоской рогового слоя, с короткими широкими или узкими эпителиальными гребешками в наружной части десны. СП десны состоит из рыхлой волокнистой ткани без воспалительной инфильтрации, с цепочками и поодиночке расположенными капиллярами, умеренно полнокровными. В одном образце обнаружено выраженное серозно-гнойное воспаление с формированием микроабсцесса в прикорневой части зуба с переходом на периост альвеолярного отростка челюсти.

На 14-е сутки во 2-й группе (инъекции физиологического раствора в ткани десны) на верхней челюсти десневая борозда глубокая, десневой канал узкий (рис. 2, а). Эпителий прикрепления оторван, представлен узким тяжем уплощенных эпителиаль-

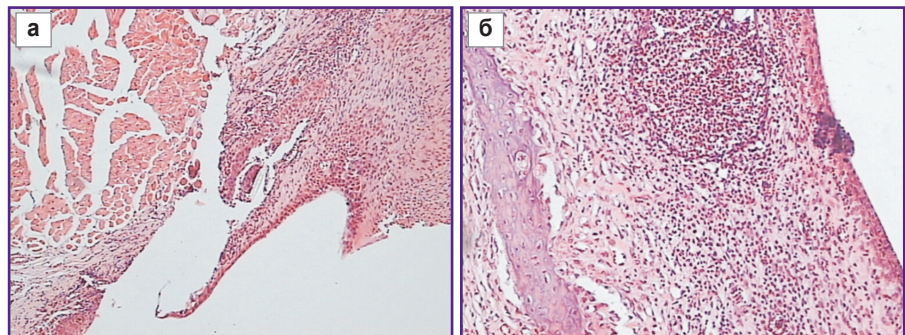


Рис. 1. Морфологические изменения в тканях десны животных 1-й группы (сформированная рецессия без дальнейшего лечения) на 14-е сутки: а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х200

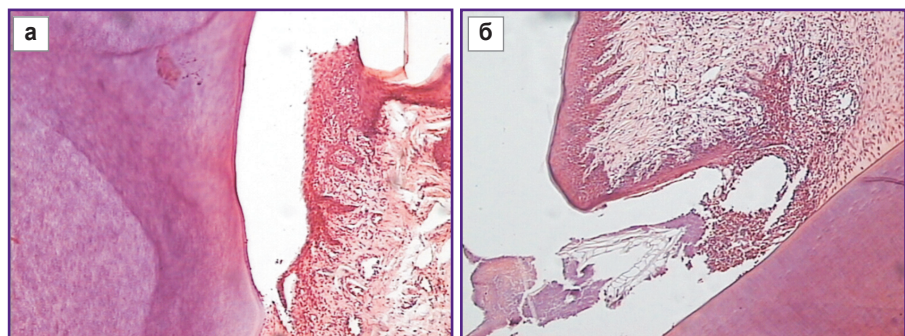


Рис. 2. Морфологические изменения в тканях десны животных 2-й группы (инъекции физиологического раствора в ткани десны) на 14-е сутки: а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х100

ных клеток. МПЭ свободной части десны — ороговевающий, с набухшим и сегментарно-отслоенным роговым слоем. В дистальной части и у дна зафиксированы мелкие очаги отека и разрыхления эпителия с гидропической дистрофией клеток. СП десны представлена малоклеточной волокнистой тканью с умеренным отеком, набуханием и разрыхлением коллагеновых волокон, констрикцией кровеносных и умеренной эктазией — лимфатических капилляров. Наблюдаются отек и разрыхление проксимального сегмента пародонтальной связки.

На нижней челюсти в этой группе (рис. 2, б) видна десневая борозда умеренной глубины. Десневой канал слегка расширен. Дно десневого канала состоит из узкого сегмента рыхлой волокнистой ткани с минимальным серозным воспалением. Эпителий прикрепления оторван, с узким тяжем уплощенного эпителия, перифокально в зоне дна — с серозно-продуктивным воспалением. МПЭ свободной части десны — ороговевающий, с узким тяжем рогового вещества, сегментарно минимально набухшего. Отмечается мультиочаговая минимальная пролиферация клеток базального слоя. СП свободной части десны состоит из малоклеточной рыхлой волокнистой ткани с расширенными лимфатическими капиллярами, очаговым серозно-продуктивным воспалением, в дистальном отделе наблюдаются компактно

и полиочагово рыхло расположенные тяжи из плотно упакованных тонких волокон.

На 14-е сутки в 3-й группе (инъекции материала «Коллост» 7%) на верхней челюсти десневая борозда неглубокая, десневой канал умеренно расширен, в его просвете геля нет (рис. 3, а).

На дне десневого канала наблюдается очаговая пролиферация эпителиальных клеток. Эпителий прикрепления оторван, с узким тяжем эпителиальных клеток. МПЭ свободной части десны — ороговевающий, с неравномерной полоской рогового слоя. СП свободной части десны состоит из малоклеточной рыхлой волокнистой ткани с мелкими очагами узких капилляров, без компонентов крови в их просвете и без признаков воспаления. Пародонтальная связка — широкая, малоклеточная, интегрирована с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти в этой группе десневая борозда не расширена, десневой канал неглубокий. В его просвете наблюдаются небольшие тяжи геля с очагами разрежения (рис. 3, б). Эпителий прикрепления оторван, представлен узким тяжем рыхлой волокнистой ткани с перифокальной гиперплазией эпителиоидных клеток. Эпителий свободной части десны — ороговевающий, с узкой полоской рогового слоя, расслоенного и сегментарно отслоенного. Отмечается неравномерная гипертрофия МПЭ по

внутренней поверхности у дна десневого канала за счет гиперплазии зернистого, шиповатого и сегментарно-базального слоев с тонкими эпителиальными гребешками. СП свободной части десны представляет собой рыхлую неоформленную волокнистую ткань. Пародонтальная связка — малоклеточная, интегрирована с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На 14-е сутки в 4-й группе (инъекции суспензии МСК в физиологическом растворе) на верхней челюсти десневая борозда широкая, десневой канал глубокий (рис. 4, а). Прикрепленная часть представлена тяжем эпителиоидных клеток с гиперплазией их в дистальной части и более выраженной — в области дна, с перифокальной фиброплазией СП десны — с многочисленными профибробластами, которые распространяются на пародонтальную связку и периост альвеолярного отростка челюсти. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с

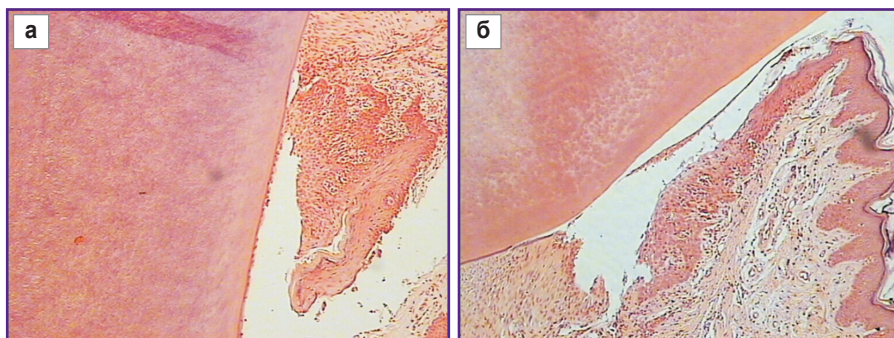


Рис. 3. Морфологические изменения в тканях десны животных 3-й группы (инъекции геля «Коллост» 7%) на 14-е сутки:
а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х100

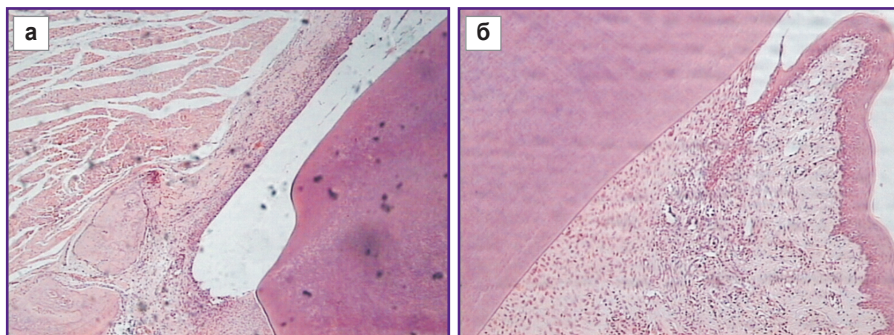


Рис. 4. Морфологические изменения в тканях десны животных 4-й группы (инъекции суспензии МСК в физиологическом растворе) на 14-е сутки:
а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х50

сегментарно расслоенным и/или отслоенным роговым слоем. Очаги неангиогенеза представляют собой мелкие группы и цепочки эктазированных полнокровных капилляров. Не отмечается признаков воспаления. Пародонтальная связка густоклеточная.

На нижней челюсти в этой группе десневая борозда относительно широкая, десневой канал глубокий, без содержимого (рис. 4, б). Дно канала состоит из узкой полоски рыхлой волокнистой ткани с единичными капиллярами и сегментарно — из проксимальной части пародонтальной связки. В зоне дна десневого кармана намечается формирование рыхло расположенных волокон. Эпителий прикрепления оторван, представлен узкой полоской зрелой соединительной ткани и эпителия. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с обычными или сглаженными эпителиальными гребешками, СП — из зрелой рыхлой соединительной ткани с малочисленными функционирующими капиллярами и участком в дистальном отделе. У дна десневого кармана отмечается преобладание мелких недифференцированных клеток без признаков воспаления. Пародонтальная связка гиперклеточная, дистальная ее часть расширена и интегрирована с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На 14-е сутки в 5-й группе (инъекции суспензии МСК в геле «Коллост» 7%) на верхней челюсти десневой канал — обычный или короткий, в просвете содержимого нет или встречаются единичные мелкие глыбчатые фрагменты геля с мелкоочаговым просветлением и крошечным участком фиброза и склероза (рис. 5, а). Дно десневого канала расширено, представлено эпителиальными клетками и дистально расположенной узкой полоской зрелой малоклеточной соединительной ткани. Эпителий прикрепления представлен узким тяжем мелких недифференцированных клеток — предшественников фибробластов — и перифокальной относительно широкой полосой эпителиальных клеток. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с обычными или укороченными и сглаженными эпителиальными гребешками, с минимальной сегментарной гиперплазией базальных клеток, а СП свободной части десны — из рыхлой волокнистой ткани, малоклеточной, с мелкими очагами узких капилляров без компонентов крови в их просвете и без признаков воспаления. Пародонтальная

связка — широкая, малоклеточная, интегрирована с периостом альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти в этой группе десневой канал короткий, в просвете виден глыбчатый гель — разрыхленный и сегментарно фрагментированный, со спикүлоподобными тяжами фибрина, с мелким очагом инфильтрации мононуклеарами, включая сегментоядерные лейкоциты (СЯЛ) (рис. 5, б).

Эпителий прикрепления отслоен, полиморфной гистоструктуры: мелкий участок эпителиоидных клеток с гомогенным межклеточным веществом у дна десневого канала, проксимальный участок из рыхлой малоклеточной волокнистой ткани, очаги тонкостенных эктазированных сосудов с пролиферацией и десквамацией эндотелиоцитов, диффузно расположенные мелкие и недифференцированные клетки. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с относительно широким роговым слоем, а СП свободной части десны — из зрелой малоклеточной волокнистой ткани с расширенными лимфатическими капиллярами и без воспалительной инфильтрации. Дно десневого канала представлено узким тяжем рыхлой мелкоячейистой волокнистой ткани и в дистальной части — полоской эпителиальных клеток.

На 28-е сутки в 1-й группе на верхней челюсти десневая борозда углублена и формирует десневой «карман» (рис. 6, а). Эпителий прикрепления

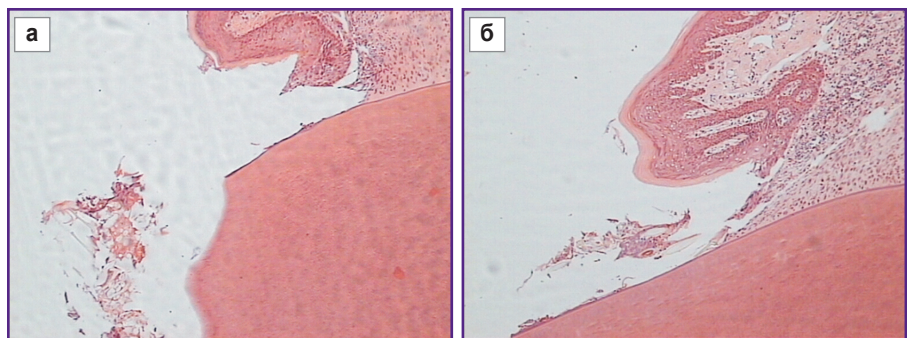


Рис. 5. Морфологические изменения в тканях десны животных 5-й группы (суспензия МСК + гель «Коллост» 7%) на 14-е сутки:
а — в верхней челюсти; x100; б — в нижней челюсти; x400

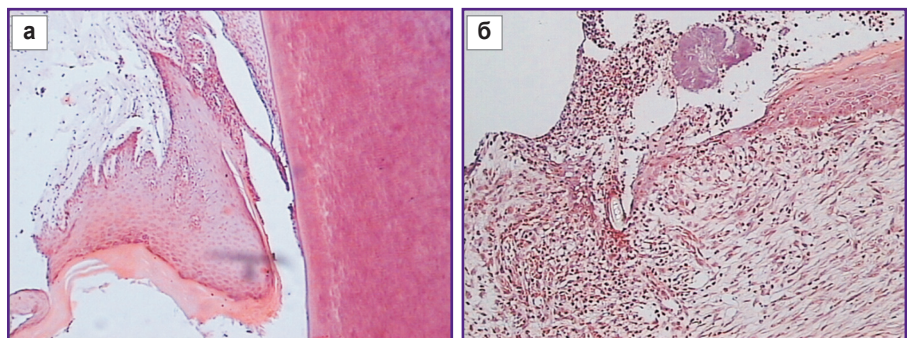


Рис. 6. Морфологические изменения в тканях десны животных 1-й группы (сформированная рецессия без дальнейшего лечения) на 28-е сутки:
а — в верхней челюсти; x100; б — в нижней челюсти; x200

представлен неравномерно узкой полоской МПЭ с очаговым разрыхлением у дна десневого кармана. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с неравномерно узким роговым слоем и низкими широкими эпителиальными гребешками, а СП десны — из рыхлой волокнистой ткани, малоклеточной (фиброциты, редко — фибробласты, диффузно разбросанные лимфоциты и плазматические клетки), с эктазией лимфатических капилляров. Пародонтальная связка неравномерно широкая, умеренно-клеточная, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти с везикуляцией остеоцитов и набуханием межклеточного основного вещества.

На нижней челюсти в этой группе десневая борозда углублена и несколько расширена, без содержимого (рис. 6, б). Очагово в субэпителиальной зоне отмечаются набухание фибробластов и инфильтрация эозинофильными лейкоцитами. Эпителий прикрепления оторван, представлен узким тяжем волокнистой ткани, в одном случае он находится в состоянии отека, сегментации и гидропического некроза. Свободный край десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с низкими и широкими или очагово — с тонкими длинными эпителиальными гребешками, в одном случае он находится в состоянии субтотального отека и гидропического некроза клеток эпителия с микроабсцессом. СП десны представлена малоклеточной волокнистой тканью, в одном случае — с инфильтрацией СЯЛ. Пародонтальная связка — густоклеточная, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти с везикуляцией остеоцитов и набуханием межклеточного основного вещества.

На 28-е сутки во 2-й группе на верхней челюсти десневая борозда углублена (рис. 7, а). Эпителий прикрепления отслоен от корня зуба, представлен чрезмерно узкой полоской отечной соединительной ткани с малочисленными фибробластами и единичными лимфоцитами. Свободный край десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с узкой полоской рогового слоя и широкими низкими, очагово-удлиненными эпителиальными гребешками. Отмечаются набухание и бледность клеток эпителия, в большей степени — ши-

поватого слоя, и минимальная пролиферация клеток базального слоя. СП десны представляет собой малоклеточную волокнистую ткань, находящуюся в состоянии сильно выраженного отека с набуханием и элиминацией фибробластов, фрагментацией, набуханием и элиминацией коллагеновых волокон. Пародонтальная связка — густоклеточная, с набухшими бледноокрашенными фибробластами, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти десневая борозда углублена и формирует расширенный десневой карман (рис. 7, б). В просвете десневого кармана наблюдаются сегменты волосяных стержней и относительно обширный участок воспалительного «экссудата» из мононуклеаров (включая СЯЛ), который распространяется на дно десневого кармана и достигает проксимального сегмента пародонтальной связки. Эпителий прикрепления оторван от корня зуба, представлен узкой полоской дистрофичного МПЭ. Свободный край десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с сегментом узкого расщепленного и отслоенного рогового слоя, с широкими низкими эпителиальными гребешками, а СП десны — из рыхлой отечной малоклеточной волокнистой ткани, с набухшими фибробластами, малочисленными лимфоцитами, единичными эозинофильными СЯЛ, эктазией и полнокровием венул, очагами элиминации клеточного и волокнистого компонентов. Пародонтальная связка — отечная, с набухшими бледноокрашенными фибробластами, интегрирована с отечной надкостницей альвеолярного отростка челюсти, в котором отмечаются набухание и гомогенизация основного костного вещества и везикуляция остеоцитов.

На 28-е сутки в 3-й группе на верхней челюсти десневая борозда формирует десневой карман, в основном без содержимого (рис. 8, а). В проксимальной части зафиксированы мелкие глыбки геля. Сегменты глыбчатого геля выявляются в основном по краю зубного корня с признаками резорбции. Эпителий прикрепления отслоен от края зубного корня, представлен узким тяжем уплощенных эпителиальных клеток. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с неравномерно узкой полосой рогового слоя, а СП десны — из малоклеточной

гомогенизированной волокнистой ткани (клетки — фиброциты, фибробласты), с мелкими тонкостенными капиллярами, без признаков воспалительной инфильтрации. Умеренно-клеточная пародонтальная связка интегрирована с перистомом альвеолярного отростка челюсти.

На нижней челюсти десневая борозда углублена и очагово расширена (рис. 8, б). В десневом кармане и в ткани десны наблюдаются полиморфные

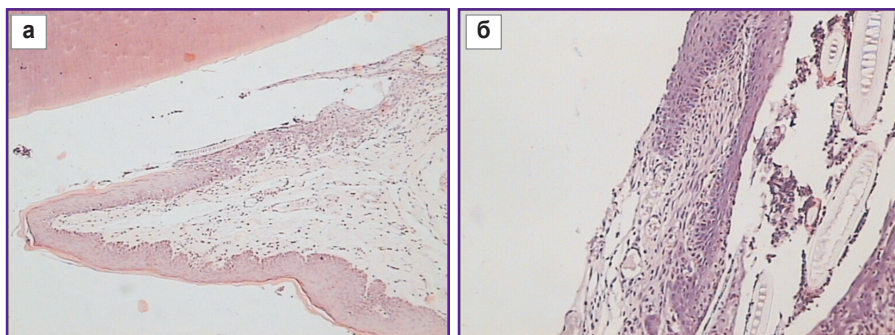


Рис. 7. Морфологические изменения в тканях десны животных 2-й группы (инъекции физиологического раствора в ткани десны) на 28-е сутки: а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х200

глубьки геля. Эпителий прикрепления представлен узкой полоской уплощенных эпителиальных клеток. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с тонкой полоской рогового слоя, бледноокрашенного. Отмечаются набухание и гомогенизация шиповатых клеток (очагово — везикуляция), очаговая пролиферация, набухание и бледность окраски базальных клеток, наличие тонких и тупоконечных эпителиальных гребешков. СП десны представлена густоклеточной (фиброциты, фибробласты) волокнистой тканью с диффузно расположенными узкими капиллярами. Пародонтальная связка — умеренно-клеточная, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти, с четкими линиями пластинок остеонов и везикуляцией остеоцитов.

На 28-е сутки в 4-й группе на верхней челюсти десневая борозда углублена, десневой карман — узкий и без содержимого (рис. 9, а). Эпителий прикрепления отслоен (оторван). Отмечаются относительно широкий матрикс, бледноокрашенные фибробласты и эпителиоидные клетки с примесью слоев густоклеточной волокнистой ткани с набухшим, бледноокрашенным межклеточным веществом, диффузно расположенными малочисленными мелкими и недифференцированными клетками. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с неравномерно утолщенной полоской рогового слоя, сегментарно отслоенного. Отмечаются отек и набухание межклеточного матрикса и клеток слоев эпителия с их дисконкомплексацией, а также набухание и бледность окраски базальных клеток с минимальной их пролиферацией и расширенными эпителиальными гребешками, местами тонкими. СП десны состоит из малоклеточной волокнистой ткани, сильно отечной, с набуханием клеток и волокнистых структур, с диффузно-очаговой их элиминацией и умеренно выраженным неоангиогенезом. Пародонтальная связка неравномерно утолщена, густоклеточная, умеренно отечная, с набухшими фибробластами и мелкими недифференцированными клетками (стволовые клетки). Она интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти, в которой также встречаются очаги мелких недифференцированных клеток с примесью единичных плазмоцитов.

На нижней челюсти десневая борозда — глубокая,

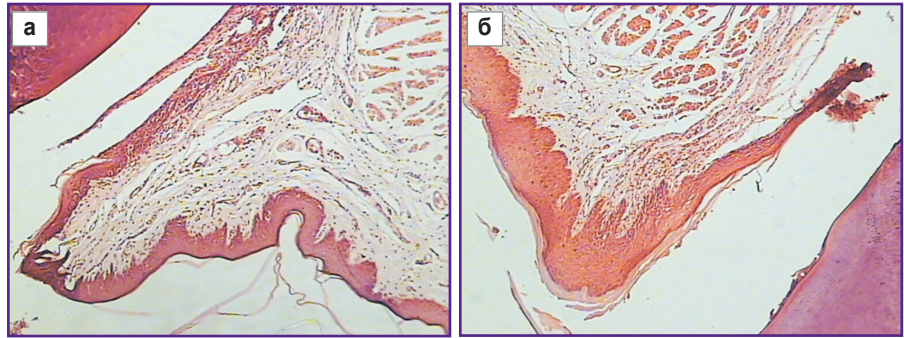


Рис. 8. Морфологические изменения в тканях десны животных 3-й группы (инъекции геля «Коллост» 7%) на 28-е сутки:

а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х200

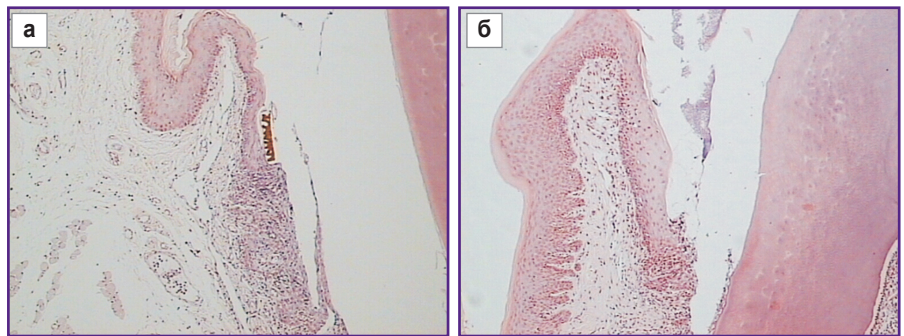


Рис. 9. Морфологические изменения в тканях десны животных 4-й группы (инъекции суспензии МСК в физиологическом растворе) на 28-е сутки:

а — в верхней челюсти; х100; б — в нижней челюсти; х100

с мешковидно расширенным или объемным десневым карманом (рис. 9, б). Эпителий прикрепления оторван, представлен тяжем эпителиоидных клеток с формирующимися эпителиальными гребешками. Свободный край десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с узкой полоской рогового слоя, сегментарно отслоенного и расслоенного, а СП десны — из умеренно- и слабклеточной волокнистой ткани, отечной, с очагами элиминации клеток и единичными мелкими недифференцирующимися клетками. Пародонтальная связка — неравномерно утолщенная, отечная, густоклеточная, с преобладанием фиброцитов, минимальным ангиогенезом отростка челюсти, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка.

На 28-е сутки в 5-й группе на верхней челюсти десневой карман — широкий и мелкий (рис. 10, а, б). Его дно состоит из малоклеточной волокнистой ткани с малочисленными мелкими гиперхромными недифференцированными клетками и преимущественно с участком эпителиоидных клеток, формирующих эпителиоидные гребешки. Гель в десневом канале и тканях пародонта не визуализируется.

Эпителий прикрепления состоит из узкого тяжа малоклеточной волокнистой ткани, с гомогенным межклеточным матриксом, единичными недифференцированными клетками и СЯЛ. Свободный край десны

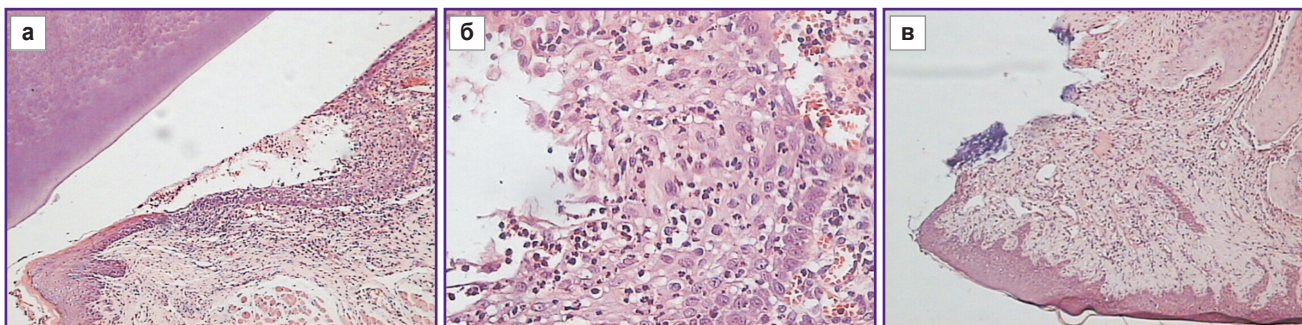


Рис. 10. Морфологические изменения в тканях десны животных 5-й группы (суспензия МСК + гель «Коллост» 7%) на 28-е сутки:

а — в верхней челюсти; окраска гематоксилином и эозином; десневой карман — широкий и мелкий, в просвете — слизь с пенетрацией лимфоцитами, сегменто-ядерными лейкоцитами и малочисленными мелкими недифференцированными клетками (редуцирующиеся стволовые клетки); $\times 100$; **б** — в верхней челюсти; окраска гематоксилином и эозином; дно кармана — из малоклеточной волокнистой ткани с малочисленными мелкими гиперхромными недифференцированными клетками (редуцирующиеся стволовые клетки), с участком эпителиоидных клеток, формирующих эпителиоидные гребешки; $\times 400$; **в** — в нижней челюсти; $\times 400$

представлен МПЭ, ороговевающим, с относительно широким роговым слоем и узкой внутренней полоской клеток зернистого слоя, с обилием мелких зерен кератогиалина. Отмечается везикуляция клеток шиповатого и базального слоев с гомогенизацией межклеточного матрикса и низкими широкими эпителиальными гребешками. СП десны состоит из малоклеточной сильно утолщенной волокнистой ткани с малочисленными мелкими недифференцированными клетками с тенденцией дифференциации в фибробласты, с умеренным неоангиогенезом. Пародонтальная связка неравномерно широкая, густоклеточная (фиброциты и преимущественно фибробласты, с мелкими очагами набухших фибробластов и их предшественников), интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти нормального строения.

На нижней челюсти десневой карман — умеренно расширенный и мелкий, без содержимого (рис. 10, в). Эпителий прикрепления оторван, представлен узким тяжем эпителиоидных клеток, рыхло упакованных, которые сегментарно составляют дно десневого кармана. Свободная часть десны состоит из МПЭ, ороговевающего, с тонким роговым и уплотненным зернистым слоем. Наблюдается очаговая пролиферация клеток базального слоя с формированием тонких эпителиальных гребешков. СП десны представлена рыхлой густоклеточной волокнистой тканью (фиброциты, преимущественно фибробласты, профибробласты, плазматические клетки, единичные СЯЛ и многочисленные редуцирующиеся недифференцированные клетки). Зафиксирован умеренно выраженный неоангиогенез. Пародонтальная связка — чрезмерно широкая и густоклеточная, состоит из фиброцитов, фибробластов и преимущественно эпителиоидных клеток, с малочисленными редуцирующимися недифференцированными клетками, интегрирована с надкостницей альвеолярного отростка челюсти нормального строения.

Таким образом, анализ морфологических изменений в тканях пародонта животных, у которых была сформирована модель рецессии десны, позволил оценить результаты применения с целью трансплантации разных биологических материалов и их сочетаний.

Местное введение физиологического раствора в ткани десны обуславливает отек и набухание тканевых и клеточных компонентов десны и пародонта, что нарушает их механическую и биофизиологическую функцию, способствует развитию дистрофических изменений (гидропическая дистрофия) и наслоению воспалительных процессов (пародонтита).

Биопластический коллагеновый материал — гель «Коллост» 7% — в изолированном виде в процессе биодеградации служит «матриksom» для образования собственной соединительной ткани, обеспечивает адгезию стволовых клеток и их трансформацию в про- и фибробласты. «Коллост» способствует уменьшению рецессии десны и глубины десневого кармана, стимулирует процесс эпителизации.

Инъекция суспензии клеточного трансплантата — МСК — в физиологическом растворе активизирует процессы клеточной пролиферации и трансформации клеток фибробластного дифферона.

Суспензия клеточного трансплантата на стерильном биопластическом коллагеновом материале «Коллост» усиливает эффекты геля и стволовых клеток, способствует нивелированию атрофических и дистрофических изменений десны, усилению механической компоненты, уменьшению рецессии десны и глубины десневого кармана.

Заключение

Результаты исследования убедительно свидетельствуют, что комбинация суспензии клеточного трансплантата — мезенхимальных стволовых клеток — и

стерильного биопластического коллагенового материала — геля «Коллост» 7% — может служить современным перспективным средством для восстановления тканей десны.

Финансирование исследования. Работа не финансировалась какими-либо источниками.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Алямовский В.В., Шестакова Л.А., Ярыгин Е.И., Шмидт П.А., Лазаренко Л.И. Использование стволовых клеток крови плода крысы при воспалительно-деструктивных процессах в тканях пародонта. *Институт стоматологии* 2014; 1(62): 103–105. Alyamovskiy V.V., Shestakova L.A., Yarygin E.I., Shmidt P.A., Lazarenko L.I. Use of cord blood stem cells of rat's fetal in the inflammatory and destructive processes in periodontal tissues. *Institut stomatologii* 2014; 1(62): 103–105.
2. Мусиенко А.И., Мусиенко С.И., Кушнир Д.В., Мусиенко А.А. Комплексный подход к планированию лечения заболеваний пародонта фактором роста. *Стоматология Казахстана* 2014; 3(4): 67–68. Musienko A.I., Musienko S.I., Kushnir D.V., Musienko A.A. Complex approach to planning treatment of periodontal diseases by growth factor. *Stomatologiya Kazakhstana* 2014; 3(4): 67–68.
3. Дедова Л.Н., Денисова Ю.Л., Кандрукевич О.В., Соломевич А.С., Росеник Н.И. Распространенность болезней пародонта, кариеса корня зуба, чувствительности дентина и зубочелюстных деформаций в Республике Беларусь по результатам обследования населения в возрастных группах 35–44, 45–54 и 55–64 года. *Стоматолог. Минск* 2016; 1(20): 9–15. Dedova L.N., Denisova Y.L., Kandrukevich O.V., Solomevich A.S., Rosenik N.I. The prevalence of periodontal diseases, root caries, dentine sensitivity and dentoalveolar deformities in the republic of belarus based on the results of examining the population aged 35–44, 45–54 and 55–64 years. *Stomatolog. Minsk* 2016; 1(20): 9–15.
4. Дедова Л.Н. Систематика заболеваний пародонта. *Стоматологический журнал* 2002; 2: 2–6. Dedova L.N. Systematics of periodontal diseases. *Stomatologicheskij zhurnal* 2002; 2: 2–6.
5. Денисова Ю.Л. Современные ортодонтические мероприятия в комплексном лечении рецессии десны у пациентов с зубочелюстными аномалиями. *Пародонтология* 2008; 4(49): 74–79. Denisova Yu.L. Modern orthodontic actions in complex treatment of gingiva recession at the patients with malocclusion. *Parodontologiya* 2008; 4(49): 74–79.
6. Денисова Ю.Л., Владимирская Т.Э. Экспериментальное обоснование применения вакуум-лазеротерапии в комплексном лечении пациентов с болезнями пародонта в сочетании с зубочелюстными аномалиями и деформациями. *Военная медицина* 2013; 1(26): 103–107. Denisova Y.L., Vladimirskaia T.E. Experimental proof of vacuum-laser therapy in the complex treatment of patients with periodontal disease in combination with dentofacial anomalies and deformation. *Voennaya meditsina* 2013; 1(26): 103–107.
7. Алексеева И.С., Волков А.В., Кулаков А.А., Гольдштейн Д.В. Клинико-экспериментальное обоснование использования комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани челюстей. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2012; 7(1): 97–105. Alexeeva I.S., Volkov A.V., Kulakov A.A., Goldshtein D.V. Clinical and experimental study on the use of combined cell transplant on the basis of multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue in patients with severe deficiency of jaws bone tissue. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya* 2012; 7(1): 97–105.
8. Бармашева А.А., Николаенко Н.С., Самусенко И.А., Орехова Л.Ю., Пинаев Г.П. Сравнительное исследование влияния фибробластов кожи и стромальных клеток костного мозга, заключенных в коллагеновый гель, на регенерацию десны. *Пародонтология* 2012; 17(4): 20–25. Barmasheva A.A., Nikolaenko N.S., Samusenko I.A., Orekhova L.Yu., Pinaev G.P. A comparative study of the influence of skin fibroblasts and bone marrow stromal cells included in collagen gel on gingiva regeneration. *Parodontologiya* 2012; 17(4): 20–25.
9. Бухарова Т.Б., Арутюнян И.В., Шустров С.А., Алексеева И.С., Федюнина И.А., Логовская Л.В., Волков А.В., Ржанинова А.А., Григорьян А.С., Кулаков А.А., Гольдштейн Д.В. Тканеинженерная конструкция на основе мультипотентных стромальных клеток жировой ткани и материала «Остеоматрикс» для регенерации костной ткани. *Клеточные технологии в биологии и медицине* 2011; 3: 167–173. Bukharova T.B., Arutyunyan I.V., Shustrov S.A., Alekseeva I.S., Fedyunina I.A., Logovskaya L.V., Volkov A.V., Rzhanianova A.A., Grigor'yan A.S., Kulakov A.A., Goldshtein D.V. Tissue-engineering design based on multipotent stromal cells of adipose tissue and "Osteomatrix" material for bone tissue regeneration. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine* 2011; 3: 167–173.
10. Манашев Г.Г., Лазаренко Л.И., Ярыгин Е.И., Мутаев Э.В., Бондарь В.С. Перспективы использования стволовых клеток в терапии заболеваний тканей пародонта. *Сибирское медицинское обозрение* 2012; 4(76): 3–6. Manashev G.G., Lazarenko L.I., Yarygin E.I., Mutaev E.V., Bondar V.S. Perspectives of using the stem cells in therapy of periodontal tissues disease. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* 2012; 4(76): 3–6.
11. Рубникович С.П., Хомич И.С. Костные трансплантаты и заместители для устранения дефектов и аугментации челюстных костей в имплантологии и пародонтологии. *Стоматолог. Минск* 2014; 1(12): 77–86. Rubnikovich S.P., Khomich I.S. The use of bone grafts and bone substitutes to eliminate defects and augment jaw bones in dental implantology and periodontology. *Stomatolog. Minsk* 2014; 1(12): 77–86.
12. Рубникович С.П., Хомич И.С. Применение современных остеопластических материалов в хирургической стоматологии. *Стоматолог. Минск* 2014; 4(15): 56–57. Rubnikovich S.P., Khomich I.S. The use of bone grafts and modern bone substitutes in oral surgery. *Stomatolog. Minsk* 2014; 4(15): 56–57.
13. Стволовые клетки в стоматологии. *Современная стоматология* 2012; 2: 28–30. Stem cells in dentistry. *Sovremennaya stomatologiya* 2012; 2: 28–30.

14. Куцевляк В.Ф., Куцевляк В.И., Омельченко Е.А., Забирник А.С., Цыганова И.В. Направленная регенерация костных дефектов альвеолярного отростка с использованием стволовых клеток костного мозга на коллапановой подложке у экспериментальных животных. *Вестник проблем биологии и медицины* 2015; 3(2): 368–374. Kutsevlyak V.F., Kutsevlyak V.I., Omelchenko E.A., Zabirnyk A.S., Tsyganova I.V. Directional regeneration of alveolar bone defects using stromal cells of bone marrow with kollapan substrate on experimental animals. *Vestnik problem biologii i meditsiny* 2015; 3(2): 368–374.
15. Перова М.Д., Гайворонская Т.В., Карпюк В.Б., Тропина А.В. Характеристика степени замещения пародонтальных дефектов разной топографии после ауто-трансплантации васкуляростромальноклеточной фракции липоаспирата. *Кубанский научный медицинский вестник* 2013; 6(141): 142–148. Perova M.D., Gajvoronskaya T.V., Karpjuk V.B., Tropina A.V. Replacement evaluation of different periodontal defects using stromal vascular fraction of lipoaspirate. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik* 2013; 6(141): 142–148.
16. Рубникович С.П., Владимирская Т.Э., Швед И.А., Веялкина Н.Н. Метод моделирования экспериментального пародонтита у животных. *Медицинский журнал* 2011; 1(35): 97–101. Rubnikovich S.P., Vladimirskaya T.E., Shved I.A., Veyalkina N.N. Method modeling of experimental periodontitis in animals. *Meditsinskiy zhurnal* 2011; 1(35): 97–101.
17. Туманов В.П., Жакота Д.А., Корчагина Н.С. 30-летний опыт разработки и применения клеточных технологий в клинической практике. *Пластическая хирургия и косметология* 2012; 3: 433–449. Tumanov V.P., Zhakota D.A., Korchagina N.S. 30-year experience of development and application of cell technologies in clinical practice. *Plasticheskaya khirurgiya i kosmetologiya* 2012; 3: 433–449.
18. Сельская Б.Н., Мусина Л.А., Камилов Ф.Х. Влияние коллагенсодержащего препарата на морфологическое состояние кожи в эксперименте. *Казанский медицинский журнал* 2017; 98(6): 962–967. Sel'skaya B.N., Musina L.A., Kamilov F.Kh. Experimental effect of collagen-containing medication on skin morphology. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal* 2017; 98(6): 962–967, <https://doi.org/10.17750/kmj2017-962>.
19. Камилов Ф.Х., Сельская Б.Н., Данилова О.В., Капулер О.М. Метаболизм коллагена в коже экспериментальных животных при интердермальной инъекции немодифицированного бычьего коллагена I типа. *Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле* 2017; 27(3): 356–361. Kamilov F.Kh., Selskaya B.N., Danilova O.V., Kapouler O.M. Metabolism of collagen in the skin of experimental animals at interdermal injection of unmodified bovine collagen of type I. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o Zemle* 2017; 27(3): 356–361.
20. Метод направленной тканевой регенерации в пародонто-альвеолярной реконструкции. Под ред. Ореховой Л.Ю. М: Литерра; 2017. *Metod napravlennoy tkanevoy regeneratsii v parodonto-alveolyarnoy rekonstruktsii* [Method of directed tissue regeneration in periodontal-alveolar reconstruction]. Pod red. Orekhovoy L.Yu. [Orekhova L.Yu. (editor)]. Moscow: Literra; 2017.
21. Комаров А.Н., Кезина Л.П., Силина Е.В., Габитов Р.Б., Орлова А.С., Корейба К.А. Клиническая эффективность биопластического материала на основе нативного коллагена I типа в лечении пролежней у пациентов в нейрореабилитации: рандомизированное сравнительное исследование. *Вестник восстановительной медицины* 2017; 2(78): 74–83. Komarov A.N., Kezina L.P., Silina E.V., Gabitov R.B., Orlova A.S., Koreyba K.A. The clinical effectiveness of bioplastic material based on type I collagen for treatment of pressure ulcers in neurorehabilitation patients: randomized comparative study. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny* 2017; 2(78): 74–83.
22. Ступин В.А., Силина Е.В., Горский В.А., Горюнов С.В., Жидких С.Ю., Комаров А.Н., Сивков А.С., Габитов Р.Б., Золотарева Л.С., Синельникова Т.Г., Баранцевич Е.Р., Богомолов М.С., Корейба К.А., Богданов Е.А., Кривихин В.Т., Бакунов М.Ю., Елисеева М.Е., Кривихин Д.В. Эффективность и безопасность местного применения коллагенового биоматериала в комплексном лечении синдрома диабетической стопы (итоги многоцентрового рандомизированного клинического исследования). *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2018; 6: 91–100. Stupin V.A., Silina E.V., Gorskiy V.A., Gorjunov S.V., Zhidkikh S.Yu., Komarov A.N., Sivkov A.S., Gabitov R.B., Zolotareva L.S., Sinel'nikova T.G., Barancevich E.R., Bogomolov M.S., Koreyba K.A., Bogdanov E.A., Krivihin V.E., Bakunov M.Yu., Eliseeva M.E., Krivihin D.V. Efficacy and safety of collagen biomaterial local application in complex treatment of the diabetic foot syndrome (final results of the multicenter randomised study). *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* 2018; 6: 91–100, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018691-100>.
23. Силина Е.В., Ступин В.А., Золотарева Л.С., Комаров А.Н. Применение нативного коллагена в клинической практике для лечения хронических ран. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2017; 9: 78–84. Silina E.V., Stupin V.A., Zolotareva L.S., Komarov A.N. Native collagen application in clinical practice for chronic wounds treatment. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* 2017; 9: 78–84, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2017978-84>.