
MUCOGRAFT: 3D COLAGEN MATRIX FOR SOLVING GINGIVAL RECESSIONS

Zaklina Menceva

University Dental Clinical Center St. Pantelejmon-Skopje, Department of Oral surgery and Implantology,
menceva@yahoo.com

Biljana Evrosimovska

University Dental Clinical Center St. Pantelejmon-Skopje, Department of Oral surgery and Implantology,
bevrosimovska@gmail.com

Aneta Terzievska

University Dental Clinical Center St. Pantelejmon-Skopje, Department of Oral surgery and Implantology,
anetaterzievska@gmail.com

Daniela Veleska Stevkovska

University Dental Clinical Center St. Pantelejmon-Skopje, Department of Oral surgery and Implantology,
daniela.veleska@gmail.com

Abstract: Introduction. Clinical correction of recessions is an important aesthetic and functional moment, but periodontal regeneration is evident only by histological confirmation.

Goal. Histologically verify the finding in the intervening segment after applying the mucograft 6 months of treatment. **Material and method.** A prospective clinical study covered 12 patients transplanted with mucograft. In all subjects after 6 months of intervention, is taken biopsy from a transplanted place with a micropunch gum technique in size of 2 mm, after a previous application of 3% local anesthetic Scandonest. The material is subjected to a histological examination of a tissue sample graded in 4 categories: immature collagen tissue, mature (normal) collagen tissue, fragmented collagen and oedematous tissue. At the same time, the structure of the elastic fibers in the tissue sample material is graded in three categories: with normal structure, fragmented rare and fragmented multiplied elastic fibers.

Results. In the majority of the respondents 9 (75%) the presence of mature (normal) collagen fibers was confirmed, while in 3 (25%) immature collagen tissue, I relation to the elastic fiber test, the elastic fibers with the normal structure and elastic fibers with an immature fragmented structure are equally represented.

Conclusion. After six months of the intervention, the GeistlichMucograft® 3D collagen matrix is an ideal biomaterial for soft tissue regeneration and is an ideal replacement for the connective tissue graft that is still a gold standard in the resolution of gingival recessions, which simultaneously provides stability for suturing and immeasurable stabilization blood coagulum with early release of soft tissue cells. It is confirmed that the Mucograft collagen matrix histologically is characterized by a shorter epithelium and is successfully incorporated into adjacent adherent host tissues, and at the same time there is a clinical appearance of the natural gingiva of the transplanted site. Mucograft membrane is a promising alternative for the regeneration of keratinized mucous membranes.

After six months of the intervention, the GeistlichMucograft® 3D collagen matrix is an ideal biomaterial for soft tissue regeneration and is an ideal replacement for the connective tissue graft that is still a gold standard in the resolution of gingival recessions.

Keywords: gingival recession, mucograft, elastic fibers, collagen fibers, connective tissue

МУКОГРАФТ: 3D КОЛАГЕН МАТРИКС ЗА РЕШАВАЊЕ НА ГИНГИВАЛНИ РЕЦЕСИИ

Жаклина Менчева

Универзитетски Стоматолошки Клинички Центар Св. Пантелејмон-Скопје, Клиника за Орална хирургија и Импантологија, menceva@yahoo.com

Анета Терзиевска

Универзитетски Стоматолошки Клинички Центар Св. Пантелејмон-Скопје, Клиника за Орална хирургија и Импантологија, anetaterzievska@gmail.com

Билјана Евросимовска

Универзитетски Стоматолошки Клинички Центар Св. Пантелејмон-Скопје, Клиника за Орална хирургија и Импантологија, bevrosimovska@gmail.com

Даниела Велеска Стевкоска

Универзитетски Стоматолошки Клинички Центар Св. Пантелејмон-Скопје, Клиника за Орална хирургија и Имплантологија, daniela.veleska@gmail.com

Абстракт: Вовед. Клинички корекцијата на рецесиите е битен естетски и функционален момент, но пародонталната регенерација е евидентна единствено со хистолошка потврда.

Цел. Хистолошки да се верифицира наодот во интервенираниот сегмент по примена на мукографт 6 месеци од третманот.

Материјал и метод. Во проспективната клиничка студија се опфатени 12 пациенти трансплантирани со мукографт. Кај сите испитаници по 6 месеци од интервенција, земена е биопсија од трансплантираното место со micropunch gum техника во големина од 2 mm по претходна апликација на 3% локален анестетик Scandonest. Материјалот е подложен на хистолошко испитување на ткивниот примерок градуиран во 4 категории: незрело колагено ткиво, зрело (нормално) колагено ткиво, фрагментиран колаген и едематозно ткиво. Истовремено испитувана е структурата на еластичните влакна, во земениот материјал од ткивните примероци кои се градуирани во три категории: со нормална структура, фрагментирани ретки и фрагментирани намножени еластични влакна.

Резултати. Кај најголемиот дел од испитаниците 9 (75%) потврдено е присуство на зрело (нормално) ткиво на колагени влакна, додека кај 3 (25%) незрело колагено ткиво, во однос на испитувањето на еластичните влакна во подеднаков процент се застапени еластични влакна со нормална структура и еластични влакна со незрела фрагментирана структура.

Заклучок. По шест месеци од спроведената интервенција Geistlich Mucograft® 3D колагениот матрикс е идеален биоматеријал за потребите за регенерација на меките ткива и е идеална замена за сврзно ткивниот графт кој сеуште е златен стандард во решавањето на гингивалните рецесии кој истовремено овозможува стабилност за сутурирање и имедијатна стабилизација на крвниот коагулум со рано враснување на мекоткивни клетки. Се потврдува дека Mucograft колаген матриксот хистолошки се карактеризира со пократок епител и успешно се инкорпорира во соседните сврзни ткива на домаќинот, а воедно клинички има изглед на природната гингива на трансплантираното место. Mucograft мембраната е ветувачка алтернатива за регенерација на кератинизирана лигавица.

Клучни зборови: гингивална рецесија, мукографт, еластични влакна, колагени влакна, сврзно ткиво.

ВОВЕД

За естетиката на секоја индивидуа покрај забите со формата, големината и бојата¹ од суштинско значење е морфологија на гингивата. Одтука логично е дека гингивалната рецесија често е поврзана со проблеми во естетиката, хиперсензитивност на коренот и стравот на пациентите од губиток на забите.

Сепак, од сите аспекти гледано третманот на рецесиите е прилично комплексна постапка каде успехот на интервенцијата зависи од многу причини. Меѓу оние кои што вреди да бидат посочени се следните: почетната состојба, билоскиот капацитет на ткивото, изборот на техниката, крвоснабдувањето и регенеративниот потенцијал на пародонталното ткиво².

Биотипот на гингивата е еден вид критички фактор кој понатаму го детерминира резултатот од пародонталниот третман т.е. значително влијае врз терапевтските очекувања кои се потпираат на реставративниот, регенеративниот и имплант третманот. Тој е во директна корелација со појавата на гингивалната рецесија и хируршките техники кои може да бидат применети во корективни цели. Со примена на пародонтално хируршки методи се очекува да се добие целосна или делумна покриеност на оголените коренски површини, паралелно со вистинска пародонтална регенерација на следена на микроскопско ниво од хистолошки аспект². И покрај прилично предвидливите клинички резултати со примена на разични видови пародонтални флапови во комбинација со слободен гингивален графт и мукографт, хистолошките резултати може да се споредат единствено со примерок од биопсија од трансплантираното ткиво на пациентите. Многу странски автори ги објаснуваат тешкотиите на кои наидуваат при убедувањето на пациентите да се согласат за биопсија и покрај тоа што техниката е минимално инвазивна. На овие биопсии евидентна е пародонтална регенерација која хистолошки е потврдена. Адхезивноста помеѓу површината на коренот и графтоот покажува дека здравувањето се јавува првенствено со формирање нов пародонтално-ткивен атачмент меѓу коренот и графтоот³.

Целта на оваа студија беше да се направи хистолошка верификација во интервенираниот сегмент по примената на мукографт по 6 месеци од третманот.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Хируршките и хистолошките протоколи се одобрени од Етичкиот комитет на Стоматолошкиот факултет при Универзитетот “Св. Кирил и Методиј” во Скопје - РМ Македонија. Информирани согласност е добиена од пациентот по внимателно објаснување на хируршката процедура, прогноза и можни компликации.

Во истражувањето се опфатени вкупно 12 испитаници со поединечни и мултипли гингивални рецесии третирани со мукографт.

Секоја орално-хируршка интервенција е изведувана по апликација на 3% анестетик Scandonest во вид на плексус анестезија со помош на карпул шприц за n. maxillarismandibularis. Со инструментариумот за пародонтална хирургија на Carl Martin GmbH Solingen од Германија, третирани се поединечни мултиплигингивални рецесии.

Geistlich Mucograft на пазарот го има во пакувања со две димензии: 15 mmx20 mm, и 20 mmx30 mm. За оваа цел користени се двете големини во зависност од обемот на регијата. Овој колаген матрикс овозможува лесна апликација без пре-третман и пре-хидратација, се сече после мерење додека е сув и како таков се аплицира. Неговата хидрофилност овозможува лесно да се хидрира од крвта. Сутурирањето е спроведено без тензија со ресорптивни конци за околното ткиво.

За хистолошко испитување земена е биопсија од трансплантираното место со micropunch gum техника во големина од 2 mm по претходна апликација на 3% локален анестетик Scandonest. Биопсијата е изведена после 6 месеци од интервенцијата. Земениот материјал е фиксиран во неутрален формалин во епендорф епруветки 6 до 18 часа и обработен по постапка за вкопување во парафин. Од 4 – 6 микронски пресеци се боени со hemalaun eosin на LEICA автоматски стејнер. Понатаму материјалот беше подложен на хистолошка анализа со цел одредување структура на ткивото во однос на колагени и еластични влакна. Кај сите испитаници вклучени во истражувањето направена е хистолошка верификација на ткивниот примерок градуиран во 4 категории: а) незрело колагено ткиво; б) зрело (нормално) колагено ткиво; в) фрагментиран колаген и г) едематозно ткиво.

Во однос на структурата на еластичните влакна, кај сите испитаници во ткивните примероци регистрирани се наоди кои се распределени во три групи: а) со нормална структура; б) фрагментирани ретки и в) фрагментирани намножени.

СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА

За обработка на податоците користен е SPSS 17.0. За анализата на атрибутивните серии користени се коефициент на односи, пропорции и стапки, а истите се прикажани како апсолутни и релативни броеви.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Кај најголемиот дел од испитаниците 9 (75%) потврдено е присуство на зрело (нормално) ткиво (табела 1), додека кај 3 (25%) незрело колагено ткиво. Ниеден од испитаниците немал зрело фрагментирано колагено ткиво и едематозно ткиво.

Табела 1. Хистолошка верификација според типот на колагено ткиво по 6 месеци од оперативната интервенција

Тип на колагено ткиво		Мукографт
незрело	Број	3
	%	25%
зрело (нормално)	Број	9
	%	75%
зрело фрагментирано	Број	0
	%	0%
Вкупно	Број	12

Табела 2. Хистолошка верификација на еластичните влакна по 6 месеци од интервенцијата

Тип на еластично ткиво		Мукографт
нормална структура	Број	6
	%	50%
фрагментирани ретки	Број	6
	%	50%
Вкупно	Број	12

Во однос на еластични влакна подеднакво се застапени фрагментирани ретки влакна и еластични влакна со нормална структура.

Примарното зараснување е од есенцијално значење во реконструктивната хирургија. Интеграцијата на графтоот со околните ткива, зависи од квалитетот на крвоснабдувањето како и превенцијата од бактериска инфекција. Овие два услова се круцијални за инкорпорирање на графтоот со околните ткива. Заздравувањето на раните во оралната шуплина по трансплантација на графт, покажува после 3 недели состојба на паракератинизација^{4,5}.

Освен овие значајни параметри за успехот исто така важни се и возраста на пациентот како и ширината и висината на интерденталните папили на оперативното место, од кои зависи крвоснабдувањето, а со тоа и исхраната на графтоот⁶.

Лошите навики како што е пушењето се исто така од примарно значење за успехот на оперативната интервенција, бидејќи со него се намалува оксигенацијата на имплантираното ткиво.

Основните принципи на заздравување на оралната мукоза се: хемостаза, воспаление, пролиферација и созревање односно матрикс ремоделирање. Матичните клетки кои потекнуваат од ендотелијаните, се привлечени во раната, а самата хипоксија делува стимулаторно⁷.

Хемостазата односно згрутчувањето на крвта започнува во првите неколку минути од повредата, со реакцијата на тромбоцитите во крвта кои започнуваат да се движат кон оштетеното место. Ова резултира со активирање на фибрин, кој формира мрежа и делува како "лепак" за да ги поврзе тромбоцитите едни на други формирајќи тромбоцитен чеп⁸. Ендотелот на крвните садовите созрева со поставување на нов ендотелен екстрацелуларен матрикс, проследен со формирање базална ламина.

Во текот на фазата на воспаление се ослободуваат оштетените и мртвите клетки, заедно со бактериите и другите патогени остатоци. Ова се случува преку процесот на фагоцитоза, каде што белите крвни зрнца буквално ги "јадат" остатоците со помош на макрофагите. Факторите на раст од тромбоцитите се ослободуваат во раната што предизвикува миграција и поделба на клетките за време на пролиферативната фаза.

Пролиферација односно растот на ново ткиво вклучува миграција и пролиферација на епителните клетки, диференцијација на миофибробластите и растење на нови капилари во раната односно ангиогенеза, колагенско таложење, формирање на гранулациони ткива, епителијализација и контракција на раната^{9,10}.

Во ангиогенезата, васкуларните ендотелијални клетки формираат нови крвни садови. При формирањето на гранулационо ткиво, фибробластите растат и формираат нова, привремена екстрацелуларна матрица (ЕСМ) со излучување на колаген и фибронектин.

Созревањето т.е ремоделирање на ткивото настанува кога колагенот е веќе преработен а клетките кои повеќе не се потребни се отстрануваат со програмирана клеточна смрт или таканаречена апоптоза.

Сврзното ткиво е одговорно за стабилноста и функцијата на целиот пародонциум. Се состои од клетки кои се вградени во екстрацелуларниот матрикс, а колагенот ја има главната улога.

Стабилноста на постоперативната рана е клучен фактор за успехот на овој тип хируршки интервенции. Почетната адхезија на крвниот тромб на ниво на површината на коренот е од критична важност со што се осигурува потребен притисок и стабилност за иницијација на процесот на заздравувањето. Како резултат на тоа изборот на хируршката техника како и првата постоперативна недела е одлучувачка за терапевтски успех¹¹.

Во оваа студија следењето на наодите е спроведено после 6 месеци, но за жал проценката на процесот на заздравување и хистолошка верификација на ткивото не е доволно обработен и приложен во

литературата која ни е достапна, па отука и нема можност за конфронтација на добиените резултати од оваа студија со други наоди.

Geistlich Mucograft кој е колаген матрикс специфично дизајниран за мекоткивна регенерација истовремено овозможува стабилност за сугурирање и имедијатна стабилизација на крвниот коагулум со рано враснување на мекоткивни клетки (крвни и нервни влакна)¹². Составен е од два слоја: компактен и спонгиозен. Компактниот слој е составен од колагени влакна со оклузивни клеточни својства кој не само што штити од бактериска инфилтрација за време на отворените услови за лекување, туку содржи и соодветни еластични својства за да се приспособат на шиеење. Вториот слој составен е од густа, порозна, сунѓереста колагенска структура која овозможува олеснета организација на коагулумот и промоција на неоангиогенеза и интеграција на ткивата¹³.

Geistlich Mucograft® 3D колаген матрикс е идеален биоматеријал за потребите за регенерација на меките ткива. Фибробластите на домаќинот реагираат на колагенот на мембраната со производство на нови колагени влакна^{14,15}. Мукографтот аплициран на претходно припременото лежиште за трансплантација преку својот порозен слој овозможува брзо инфилтрирање од мезенхималните клетки на домаќинот. Реакцијата на ткивото е поволна и за разлика од типичниот одговор на странично тело во организмот не се создаваат мултинуклеарни гигантски клетки, лимфоцити и гранулационо ткиво.

Mucograft мембраната е ветувачка алтернатива за регенерација на кератинизирана лигавица. Според Schmitt¹⁶ употребата на Mucograft е доволна алтернатива на слободниот грангивален графт (FGG) во смисла на зголемување на кератинизираната лигавица. Колагенската матрица Mucograft веќе покажала слични клинички перформанси во фазата на рано заздравување, и има сличен хистолошки изглед, па дури и поприроден клинички изглед на трансплантираното место.

Тој исто така смета дека предвидливоста за долгорочна стабилност сè уште не може да ја докаже, но и не може да ја спореди заради недостаток на студии. Во студијата се потврдува дека Mucograft колаген матрикс хистолошки се карактеризира со пократок епител и со успешно инкорпорирање во соседните сврзни ткива на домаќинот. Авторите евидентираат присуство на незначително воспаление, повторно факт кој се совпаѓа со наодите на нашето истражување.

ЗАКЛУЧОК

По шест месеци од спроведената интервенција зрело (нормално) ткиво е во најголем процент застапено кај Mucograft Geistlich мембрана, а во однос на еластични влакна подеднакво се застапени еластични фрагментирани ретки влакна и еластични со нормална структура со што Мукографт 3D матриксот е идеална замена за сврзно ткивниот графт кој сеуште е златен стандард во решавањето на гингивалните рецесии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Chambrone L, Sukekava F, Araujo MG, Pustiglioni FE, Chambrone LA, Lima LA, Root-coverage procedures for the treatment of localized recession-type defects, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009, 15(2):CD007161.
- [2] Christian M. Schmitt, Christian Tudor, Katrin Kiener, Falk Wehrhan, Johannes Schmitt, Stefan Eitner, Abbas Agaimy, and Karl A. Schlegel Vestibuloplasty: Porcine Collagen Matrix Versus Free Gingival Graft: A Clinical and Histologic Study *Journal of Periodontology* July 2013, Vol. 84, No. 7, Pages 914-923
- [3] Falanga V. (2005). Wound Healing. American Academy of Dermatology (AAD).s
- [4] Goldstein M, Boyan BD, Cochran DL, Schwartz Z, Human histology of a new attachment after root coverage using subepithelial connective tissue graft, *J Clin Periodontol*, 2001, 28(7):657–662.
- [5] Harris RJ, Harris LE, Harris CR, Harris AJ. Evaluation of root coverage with two connective tissue grafts obtained from the same location. *Int J Periodontol Rest Dent* 2007; 27 (4): 333-339.
- [6] JW, Levi M, Reitsma PH (January 2013). "New fundamentals in hemostasis". *Physiological Reviews*. 93 (1):327–58. doi:10.1152/physrev.00016.2011. PMID 23303912.
- [7] Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE (June 2004). "Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix". *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 36 (6): 1031–7. doi:10.1016/j.biocel.2003.12.003. PMID 15094118.
- [8] Parirokh M, Asgary S et al. A scanning electron microscope study of plaque accumulation on silk and PVDF suture materials in oral mucosa. *Int Endod J* 2004;37:776-781
- [9] Rasperini G, Silvestri M, Schenk RK, Nevins ML, Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain): a case report, *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2000, 20(3):269–275.

- [10] Ueda M, Hata K, Horie K, Torii S. 1995. The potential of oral mucosa cells for cultured epithelium: a preliminary report. *Ann Plast Surg* **35**: 498-504.
- [12] Yang JS, Lavker RM, Sun TT. 1993. Upper human hair follicle contains a subpopulation of keratinocytes with superior in vitro proliferative potential. *J Invest Dermatol.* **101** : 652-9.
- [13] Rasche H (2001). "Haemostasis and thrombosis: an overview". *European Heart Journal Supplements*. 3 (Supplement Q): Q3–Q7. [doi:10.1016/S1520-765X\(01\)90034-3](https://doi.org/10.1016/S1520-765X(01)90034-3) Versteeg HH, Heemskerk
- [14] Rafaela S. R. e Lima, Daiane C. Peruzzo, Marcelo H. Napimoga et al., Evaluation of the Biological Behavior of Mucograft in Human Gingival Fibroblasts: An in vitro study *Braz. Dent. J.* vol.26 no.6 Ribeirao Preto Nov/Dec. 2015
- [15] Rothamel D, Schwarz F, Sager M, Herten M, Sculean A, and Becker J 2005 Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat *Clin. Oral Implants Res.* **16** 369–78
- [16] Rothamel D, Schwarz F, Sculean A, Herten M, Scherbaum Wand Becker J 2004 Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells *Clin. Oral Implants Res.* **15** 443–9
- [17] Vitkov L, Krautgartner WD, Hannig M. Surface morphology of pocket epithelium. *Ultrastruct Pathol* 2005; 29(2): 121-127.