

Рыбалко Алексей Сергеевич

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОГНОЗА ИСХОДА
ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ НА ОСНОВАНИИ ОЦЕНКИ
ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИЛЕЖАЩИХ ТКАНЕЙ**

3.3.3. Патологическая физиология

3.1.7. Стоматология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Научные руководители:

доктор медицинских наук **Орлов Андрей Алексеевич**
кандидат биологических наук **Алчинова Ирина Борисовна**

Официальные оппоненты:

Русанова Анна Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сипкин Александр Михайлович – доктор медицинских наук, руководитель отделения челюстно-лицевой хирургии, заведующий кафедрой челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии факультета усовершенствования врачей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России)

Защита состоится 07 декабря 2023 года в 12 часов на заседании диссертационного совета 24.1.180.01 при ФГБНУ «НИИОПП» по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИОПП», а также на сайте <http://www.niiopp.ru/>

Автореферат разослан «03» ноября 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук



Панкова Наталия Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Дентальная внутрикостная имплантация – это современное высокотехнологичное направление в стоматологии, благодаря которому стало возможным проводить протезирование даже при полном отсутствии зубов, избегая при этом съемных ортопедических конструкций, что имеет безусловные преимущества как в сроках и возможностях адаптации, так и в целом повышает качество жизни пациентов [Громова Ю.И., 2012; Суднев И.Ю., 2007]. Эффективность остеоинтеграции дентальных имплантатов достигает, по разным данным, приблизительно 95% [Gaviria L., 2014]. Несмотря на постоянное усовершенствование техники проведения операции дентальной имплантации и назначение стандартной лекарственной терапии, при проведении оперативного вмешательства по постановке имплантатов неизбежна контаминация операционной раны микрофлорой полости рта как в операционном, так и в послеоперационном периодах, с возможным дальнейшим развитием воспалительного процесса [Brunski John V., 1992]. Частота воспалительных осложнений после внутрикостной дентальной имплантации в раннем постимплантационном периоде продолжает быть высокой [Вагнер В.Д., 2016; Романенко Н.В., 1999; Flanagan D., 2002; Roos-Jansaker A.M., 2003]. Осложнения обусловлены наличием послеоперационного повреждения тканей, стрессом, извращенным иммунным ответом на инвазию микрофлоры [Лебедев К.А., 2003; Ranney R.R., 1991]. Развитие воспалительных осложнений в отдаленном постимплантационном периоде также является частой проблемой [Кузнецова Е.А., 2012; Kinane D., 2008].

В связи с этим, на первый план выходит вопрос ранней диагностики воспалительного процесса. В 2008 г. авторский коллектив под руководством проф. А.С. Григорьяна предложили использовать цитоморфометрический метод, основанный на цифровых показателях, отражающих состояния клеточных популяций в цитограммах отпечатков со слизистой десны, для ранней оценки воспалительных заболеваний тканей пародонта [Григорьян А.С., 2008; Грудянов А.И., 2004].

Исследование клеточного состава около дентальных имплантатов с помощью неинвазивного количественного цитоморфометрического метода диагностики, позволяющего контролировать состояние раны и выявлять воспалительный процесс до развития деструкции костной ткани вокруг имплантатов является актуальным и ранее не проводилось.

Цель работы: определить критерии для прогнозирования эффективности хирургических операций по установлению дентальных имплантов в динамике послеоперационного периода на основе цитоморфометрического анализа.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Оценить возможность использования данных клеточного состава импланто-десневой борозды как неинвазивного метода выявления воспалительных изменений в послеоперационном периоде при дентальной имплантации.
2. Изучить морфологические характеристики клеточных элементов в мазках-отпечатках из импланто-десневой борозды в послеоперационном периоде при неосложненном течении и при наличии воспалительных осложнений.
3. Оценить значение цитоморфометрических показателей мазков-отпечатков из импланто-десневой борозды пациентов в сопоставлении с клинической картиной и данными рентгенодиагностики при периимплантите и мукозите.
4. Изучить динамику индекса деструкции и воспалительно-деструктивного индекса в послеоперационном периоде после постановки дентальных имплантатов при воздействии факторов риска: курения, микробной контаминации, сопутствующих соматических заболеваний.

Научная новизна

Проведенное исследование впервые показало возможность использования данных о клеточном составе импланто-десневой борозды в динамике для ранней диагностики воспалительного процесса в послеоперационном периоде дентальной имплантации.

Исследование динамики цитоморфометрических показателей (индекса деструкции (ИД) и воспалительно-деструктивного индекса (ВДИ)) отражает процессы нормального или патологического состояния периимплантатных тканей после имплантации.

Установлены факторы риска неблагоприятного течения послеоперационного периода с развитием воспаления тканей вокруг имплантатов с применением цитоморфометрического метода – курение, наличие тяжелой соматической патологии (сахарный диабет) или сопутствующего заболевания (гепатит С).

Теоретическая и практическая значимость

Оценка клеточного состава импланто-десневой борозды позволила расширить понимание процессов восстановления соединительного эпителия после дентальной имплантации. Результаты, представленные в исследовании, демонстрируют связь между выраженностью воспалительного процесса, возникновением аномальных клеточных форм, скоростью созревания и гибели эпителиальных клеток.

Неинвазивность и относительная простота исполнения позволяют рекомендовать цитоморфометрический метод с оценкой клеточного состава импланто-десневой борозды в динамике для ранней диагностики воспалительного процесса в послеоперационном периоде дентальной имплантации в практике стоматологической

имплантологии для диагностики состояния тканей вокруг дентальных имплантатов и выбора тактики терапии в случае наличия осложненного течения.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Цитоморфометрический анализ как неинвазивный метод контроля воспалительного процесса вокруг имплантатов, основанный на анализе индекса деструкции и воспалительно-деструктивного индекса в динамике послеоперационного периода, позволяет получать объективную информацию состояния периимплантатных тканей после дентальной имплантации как в ранние (1 сутки), так и в отдаленные сроки (240 дней).

2. Применение в динамике индекса деструкции и воспалительно-деструктивного индекса у курящих людей, пациентов с соматическими патологиями, позволяет отслеживать эффективность противовоспалительной терапии и своевременно предупредить осложнения воспалительного характера.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в диагностический протокол ведения послеоперационных пациентов с дентальной имплантацией в стоматологической клинике ООО «Лалима» (г. Мытищи), а также включены в курс лекций по дентальной имплантологии для студентов, ординаторов и врачей, проходящих повышение квалификации, ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы.

Личный вклад автора

Автор самостоятельно определил цель и задачи исследования, разработал дизайн исследования. Автором самостоятельно проведена адаптация ранее разработанного метода цитоморфометрического анализа при пародонтите для данного исследования (забор материала, нормальные значения в динамике послеоперационного периода), сбор материала в условиях клиники от пациентов, все инструментальные исследования. Оценка гистологических мазков-отпечатков проведена совместно с специалистом-цитологом, врачом КЛД, заведующей клинко-диагностической лабораторией ГАУЗ МНПЦ МРВСМ ДМЗ Симаковой Е.В. Автором самостоятельно сформирована база данных, проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 6 статей в журналах из актуального «Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», и приравненных к ним изданий, и 2 тезисов в сборнике докладов научных конференций.

Структура и объём диссертации

Работа изложена на 120 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов работы, главы результатов исследований и их обсуждений, выводов и перечня цитируемой литературы, состоящего из 171 источника (65 отечественных и 106 зарубежных). Рукопись содержит 6 таблиц и 47 рисунков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Адаптация цитоморфометрического метода и забор материала для исследования

Для выявления воспалительных изменений в динамике послеоперационного периода при дентальных имплантологических операциях был адаптирован метод цитоморфометрии тканей клеточного состава импланто-десневой борозды, успешно зарекомендовавший себя при лечении пародонтита [Григорьян А.С., 2008; Грудянов А.И., 2004]. Цитоморфометрический метод оценки состояния тканей пародонта основан на цифровых показателях, отражающих состояния клеточных популяций в цитограммах отпечатков со слизистой десны. Данная методика не требует использования дорогого уникального оборудования.

Сбор материала проводится в условиях стоматологического кабинета, окраска и анализ образцов в стандартных условиях цитологической лаборатории. В процессе микроскопического изучения отпечатков – мазков с исследуемой поверхности десны или, как в нашей работе, импланто-десневой борозды, фиксируется соотношение эпителиальных клеток разной степени зрелости, клеток с патологиями и клеток, являющихся маркерами воспалительного процесса. По результатам анализа вычисляются два индекса: индекс деструкции (ИД) и воспалительно-деструктивный индекс (ВДИ). ИД дает количественную и качественную (признаки цитопатологии) характеристику эпителиальных клеток; ВДИ основан на количественной характеристике соотношения клеток, которые связаны с развитием воспалительного инфильтрата.

В процессе работы оригинальная методика А.С. Григорьяна была усовершенствована: погружение в импланто-десневую борозду (между десной и поверхностью имплантата) проводили в 3 точках, используя одноразовый стерильный стоматологический аппликатор Microbrush XS, получая 6 отпечатков одного имплантата во временной точке исследования (в каждой точке 2 отпечатка - с наружной и внутренней поверхности аппликатора) [Рыбалко А.С., 2017; Григорьян А.С., 2019; Григорьян А.С., 2019] (Рисунок 1).

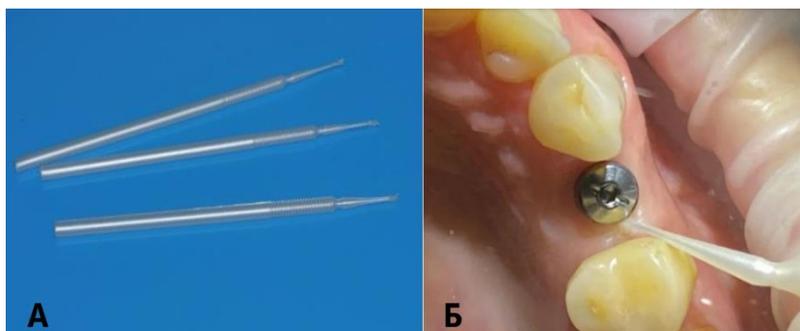


Рисунок 1. Инструмент и процесс получения материала для мазков-отпечатков.

А. Аппликатор Microbrush XS. Б. Забор цитологического материала.

Забор материала проводили в послеоперационном периоде после постановки дентальных имплантатов в срок 1, 5, 10, 15, 25, 30, 60, 180, 240, 360, 720 суток. Отпечатки брали с язычной поверхности через 2-4 часа после проведения гигиены полости рта. Из двух отпечатков, полученных с внутренней и с наружной стороны аппликатора, использовали для анализа те, где содержание клеточного материала было выше. Препараты окрашивали по стандартной методике Романовского-Гимза (МиниМед-Р, Россия).

Оценка клеточного состава

Анализ клеток производили не менее, чем в 3-х полях зрения под микроскопом Olympus CX41. При подсчете эпителиальных клеток сначала устанавливали их общее число в поле зрения, затем производили подсчет клеток с явными признаками цитопатологии и выводили относительный (к общему числу эпителиальных клеток) показатель содержания клеток с каждым из типов цитопатологии: базофилия цитоплазмы, дистрофические изменения (вакуолизация цитоплазмы, деструкция ядра и т.д.), «фагоцитирующие» клетки, апоптоз. Для клеток с указанными типами цитопатологии выводили средние относительные (в процентах) показатели, которые и использовали для вычисления ИД. При анализе соединительнотканых клеток учитывали лейкоциты, моноциты. Определяли клетки, сохранившие цитоплазму и «голаядерные» элементы, фибробласты и эндотелиоподобные клетки. Средние показатели для 3 полей зрения служили материалом для вычисления ИД и ВДИ.

Группа исследования

Исследование проводилось на базе стоматологической клиники «Микроскопная стоматология», г.Мытищи в период с 2016 по 2019 гг. Забор материала осуществляли строго с соблюдением правил этического комитета и Закона об охране здоровья граждан (№5487 «Об охране здоровья граждан» от 22 июня 1993 (в ред. Указа Президента РФ от 24.12.1993 №2288; Федеральных законов от 02.03.1998 № 30-ФЗ, от 20.12.1999 №214-ФЗ) и при подписании информированного согласия пациента (разрешение этического комитета ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» № 7-23-1 от 22 февраля 2023 г.). Все пациенты оформляли добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Предварительная отработка методики цитоморфометрической оценки была проведена на 11 пациентах (4 мужчины, 7 женщин. Возраст пациентов 30 - 60 лет). Во всех наблюдениях был использован метод одноэтапной постановки имплантатов для стандартизации условий. Сроки забора цитологического материала: 1, 5, 15, 25, 30, 60, 120 дней после постановки 111 имплантатов. Цитоморфометрические показатели определяли для каждого имплантата в отдельности.

Основной объем образцов был получен от 90 пациентов с общим количеством имплантатов 223, средний возраст составил 55 ± 18 лет, большую часть пациентов (90%) составили люди от 39 до 63 лет (таблица 1).

Материал используемого имплантата - титан марки Grate 4 с поверхностью SLA (Dentmol Germany, Dentium Superline, ФРГ). Обследование пациентов проводили в соответствии с протоколами клинических исследований [Имплантологический протокол SAFE, 2016]. Операции проводили по единым протоколам, принятым в Российской Федерации с использованием инструментов, рекомендованных производителем дентальных имплантантов.

Таблица 1. Распределение пациентов по полу и виду имплантации, абс.

Вид имплантации	Количество пациентов, из них: женщин/мужчин	Количество имплантатов
Одноэтапная характеризуется постановкой дентального имплантата в костную ткань вместе с формирователем десны	75 (ж –36, м – 39)	183
Двухэтапная на первом этапе проводится постановка имплантата и ушивание десны. На втором этапе, через 2-3 месяца устанавливается формирователь десны	15 (ж – 8, м – 7)	40
Всего	90 (ж - 44, м - 46)	223

В предоперационном периоде при поступлении в клинику пациентам проводили диагностическую компьютерную томографию, общий анализ крови, анализ крови для исключения инфекций (ВИЧ, сифилис, гепатит В и С). В исследовании участвовали условно здоровые лица (в компенсированном состоянии при наличии хронических заболеваний) только с удовлетворительной и хорошей гигиеной полости рта (определяли индекс гигиены полости рта Грина-Вермилиона). За сутки до операции проводили профессиональную чистку зубных рядов в стоматологическом кабинете. За 2 часа до операции осуществлялся прием антибиотика.

В послеоперационном периоде пациентам назначали лечение согласно стандартному протоколу.

Методы статистической обработки данных

Обработку полученных результатов проводили на основе методов вариационной статистики с применением параметрических и непараметрических критериев, используя пакет компьютерных программ Word 98, Excel 98, Access 2000, Statgraf. Числовые данные представлены в абсолютных цифрах и процентах, средние показатели как $M \pm SD$. Достоверность различий между средними величинами определяли по критериям t-критерию Стьюдента, нормальность распределения – по критерию Шапиро-Уилки. Непараметрические данные сравнивали по критерию χ^2 и тесту Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки цитоморфометрических показателей пилотной серии

Предварительная отработка методики была проведена на 11 пациентах. В качестве референсных значений показателей ИД и ВДИ первоначально были приняты результаты, полученные ранее разработчиками метода для интактного пародонта: ИД – 1000 у.е., ВДИ – 20 у.е. [Фролова О.А., 2006].

Результаты нашего исследования показывают, что при остеоинтеграции без осложнений к 60 суткам показатели ВДИ и ИД близки к показателям, предложенным авторами исходной методики, и подтверждаются клиническими данными (таблица 2).

Таблица 2. Средние показатели ИД и ВДИ периимплантационной зоны у пациентов в динамике послеоперационного наблюдения.

Показатель	1 сутки	5 сутки	15 сутки	25 сутки	30 сутки	60 сутки	120 сутки
ИД	7600±2200	7500±2830	6050±1050	6100±1200	4300±1060	1100±240 **, °	950±180 **, °
ВДИ	125±52	105±81	82±23	56±19 &	61±22	21±7 &, #	19±3 **, #
Группа без осложнений. n=7; 76 имплантов							
ИД	7800±1890	6200±1400	7180±2000	8200±2130	7000±2020	10000±3100	9200±2100
ВДИ	130±46	115±60	118±19	126±20	108±32	120±41	105±30
Группа с осложнениями. n=4; 35 имплантов							

** $p < 0.01$, t-критерий Стьюдента при сравнении средних величин по сравнению с группой с осложнениями,

° $p < 0.01$, t-критерий Стьюдента при сравнении с показателями 1-30 сутки в группе ИД,

$p < 0.01$, t-критерий Стьюдента при сравнении с показателями 1-15 сутки в группе ВДИ,

& $p < 0.05$, t-критерий Стьюдента при сравнении средних величин по сравнению с группой с осложнениями.

Полученные нами данные позволили считать методику цитоморфометрии

приемлемой и адекватной для контроля состояния тканей периимплантационной зоны и ранней диагностики послеоперационных осложнений в зоне «десна-имплантат» и определить референсные значения индексов (ИД до 1000 ± 240 у.е. и ВДИ до 21 ± 7 у.е.), характеризующих качественно прошедшую остеоинтеграцию импланта [Рыбалко А.С., 2017].

Цитоморфометрические показатели при неосложненном течении послеоперационного периода

При заборе цитологического материала инструмент контактирует с соединительным эпителием и частично с эпителием верхушки десны. Соединительный эпителий имеет клетки большего размера и более широкие межклетные пространства. Последние, заполненные жидкостью, в норме содержат полиморфноядерные лейкоциты и моноциты, которые проходят из субэпителиальной соединительной ткани через соединительный эпителий в десневую борозду. Мононуклеарные клетки вместе с секреторируемыми ими молекулами и другими молекулами, происходящими из соединительных эпителиальных клеток, крови и тканевой жидкости, представляют собой первую линию защиты в борьбе с микроорганизмами [Nanci, A., 2000].

При неосложненном течении послеоперационного периода общим можно считать появление в мазках - отпечатках большого количества эритроцитов в первые сутки после имплантации, что связано с травмирующим воздействием.

На вторые – пятые сутки в отпечатках наблюдается значительная инфильтрация нейтрофилами и макрофагами – развивается картина острой воспалительной реакции в ответ на травму и внесение чужеродного материала. Появление в этот период агломератов, состоящих из 5-8 молодых эпителиоцитов, вероятно, свидетельствует о усиленном размножении клеток базального слоя (Рисунок 2).

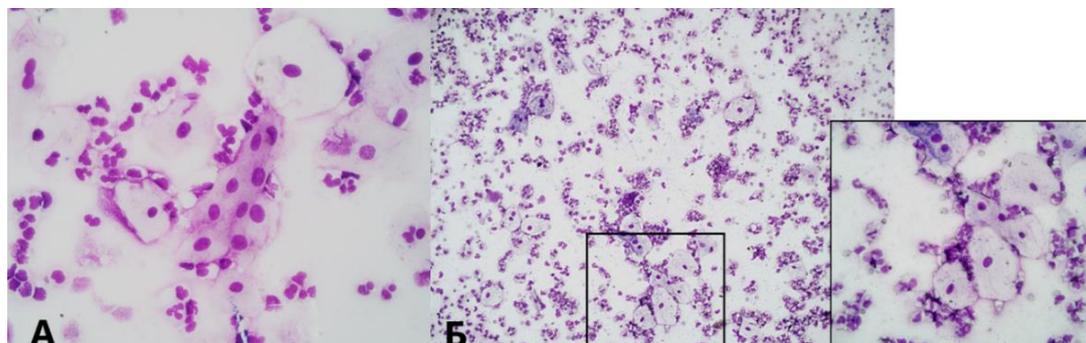


Рисунок 2. Репрезентативная фотография 5 сутки. А. Агломерат из 8 молодых эпителиоцитов, 10x40. Б. Динамика цитологической картины при нормальном течении имплантации 5 сутки, увеличение 10x10, на выноске – зрелые эпителиоциты в окружении нейтрофилов и макрофагов, 10x40. Окраска Романовский-Гимза

В последующие сроки наблюдений, как правило, в цитограммах отмечалось нарастание количества лейкоцитарных элементов. Однако, структурные характеристики эпителиальных клеток оставались без выраженных признаков патологических изменений. Значительную роль в процессе восстановления тканей играют нейтрофилы. Оказывая антимикробное действие, они взаимодействуют и с эпителиоцитами, участвуя в разрушении нефункциональных клеток. В области воспаления отдельный нейтрофил функционирует в течение нескольких суток, далее апоптотические нейтрофилы начинают активно тормозить рекрутирование макрофагов из кровотока и смещать соотношение цитокинов в сторону противовоспалительных процессов [Н.Р. Jones, 2016].

Присутствие значительных количеств нейтрофилов может приводить к разрыхлению эпителиальных клеток и появлению большого числа обширных эпителиальных комплексов (10 клеток и более), что свидетельствует, по нашему мнению, об усилении процесса десквамации. Кроме того, высокие уровни нейтрофилов помимо своей основной функции – противодействия микробной флоре, могут вызывать местные патологические повреждения эпителиальной ткани. К 30 суткам у пациентов с неосложненным течением имплантации в мазках – отпечатках наблюдается небольшое количество зрелых эпителиоцитов и единичные нейтрофилы в поле зрения.

В цитограммах пациентов с осложнениями после имплантации в мазках-отпечатках наблюдали эпителиальные клетки с нарушением структуры цитоплазмы и ядра (Рисунок 3).

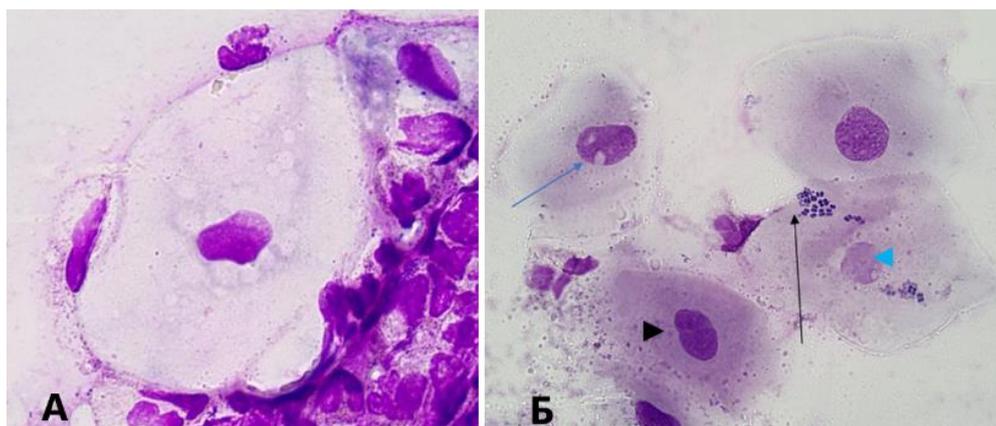


Рисунок 3. Цитограмма пациента с осложненным течением после имплантации. **А.** Вакуолизация цитоплазмы эпителиальной клетки, мелкие вакуоли, расположенные вокруг ядра, влияют на его форму. **Б.** **Синяя стрелка** - вакуолизация ядра эпителиальной клетки, **черный наконечник стрелки** - перетяжка ядра, **черная стрелка** - контаминация бактериями эпителиальной клетки с лизированным ядром (синий наконечник стрелы). X100. Окраска Романовский-Гимза.

Таким образом, нормальное течение имплантации характеризуется на начальных этапах развитием воспалительного процесса, значительную роль в котором играют нейтрофилы. Их миграция в зону травмы повышает защиту от бактериальных клеток, уменьшает адгезию эпителиальных клеток, стимулируя слущивание поврежденных, или функционально неактивных клеток. Ослабление адгезии между клетками эпителия проявляется присутствием в поле зрения клеток разной степени зрелости: от базальных до клеток, лишенных ядра. Успешная остеинтеграция импланта характеризуется уменьшением числа нейтрофилов в поле зрения и наличием преимущественно зрелых эпителиоцитов.

Динамика ИД и ВДИ в течение послеоперационного периода имплантации

Одна из задач настоящего исследования состояла в изучении динамики цитоморфометрических показателей в течение послеоперационного периода.

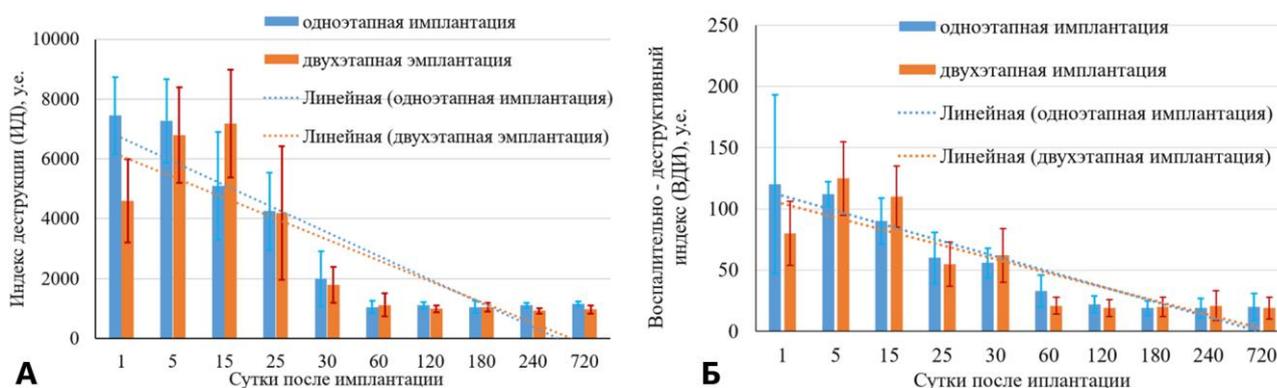


Рисунок 4. Сравнительная динамика значений ИД (А) и ВДИ (Б) в мазках-отпечатках в области имплантатов (нет значимой разницы).

Исследуемые индексы были значительно повышены с первых по пятнадцатые сутки. Начиная с 25-х суток у большей части пациентов средние значения ИД снижаются, а затем выходят на плато, которое, на наш взгляд, отражает наступление состояние равновесия между компенсаторным потенциалом тканевого субстрата в периимплантационной зоне и стрессорными воздействиями, вызванными постановкой имплантата.

Мы проанализировали значения ИД после одноэтапной и двухэтапной имплантации (Рисунок 4, А). При одноэтапной имплантации постановка импланта, формирование окружающей ткани десны происходит за одно посещение врача-стоматолога. При двухэтапной имплантации первоначально происходит остеинтеграция титанового штифта в кость, и регенерация тканей десны в течение 2-3 месяцев. На втором этапе устанавливается формирователь десны для создания индивидуального профиля под коронку. Показано, что показатели после двухэтапной

имплантации в первые сутки заметно ниже, чем после одноэтапной. Однако в последующем, на 5-е и 15-е сутки, они резко идут вверх и лишь к 25-м суткам «выравниваются» со значениями одноэтапных имплантатов, что может свидетельствовать о закономерном заживлении, отражающимся в ИД, а с 60-х суток выходят на плато.

Вероятно, различие значений ИД при одно- и двухэтапной имплантации в первые сутки объясняется тем, что при двухэтапной методике имплантат на первом этапе оказывался в относительно изолированном от внешних воздействий положении и в результате этого стабилизировался благодаря образовавшейся вокруг него плотной ткани. Лишь в последующем, начиная с 5 суток, окружающая имплантат ткань начинает реагировать на нагрузки, как на «неадекватные», в результате чего и возникает состояние стресс-реакции, находящее свое отражение в повышении показателей ИД. Плато значений ИД, наблюдаемое с 60 суток после имплантации, отражает, на наш взгляд, наступление состояния равновесия между компенсаторным потенциалом тканей периимплантационной зоны и испытываемым стрессорным воздействием.

При анализе изменений средних значений ВДИ в целом отмечали приблизительно ту же динамику, что и ИД в тех же временных точках (Рисунок 4, Б). При сравнении показателей ВДИ при одно- и двухэтапной имплантации во все временные промежутки у пациентов значимой разницы не было.

Результаты сопоставлений показателей ИД и ВДИ свидетельствуют о том, что явных различий между эффектами указанных двух методов имплантации нет.

Исследование представлялось целесообразным, поскольку полученные данные позволяли обосновать гипотетическое представление о том, что состояние тканевого комплекса в области контакта «имплантат–десна» при двух различных методах имплантации является идентичным в плане характеристики их реакционного потенциала.

Влияние курения на цитоморфометрические показатели в течение послеоперационного периода

Курение является довольно распространенной вредной привычкой. Мы предприняли специальное исследование вопроса о влиянии курения на периимплантационные ткани и возможности эффективного контроля их состояния с помощью цитоморфометрического метода у курильщиков.

Было проведено сравнение 2 групп пациентов обоего пола, не имеющих соматических и эндокринных заболеваний, с одноэтапной имплантацией. Группу разделили только по признаку курения: в группе курящих женщин было 16, мужчин - 26, общее число имплантатов - 97; в группе некурящих – женщин 20, мужчин - 13,

общее число имплантатов - 86. Курящие пациенты выкуривали в день 15 - 20 сигарет, некоторые из них до 25 (обычно пачку в день: 20 сигарет).

В цитограммах курящих пациентов наблюдали повышение числа лейкоцитов от 5 до 20 в поле зрения, изредка встречались образования мелких гнезд из 3–4 макрофагов (Рисунок 5).

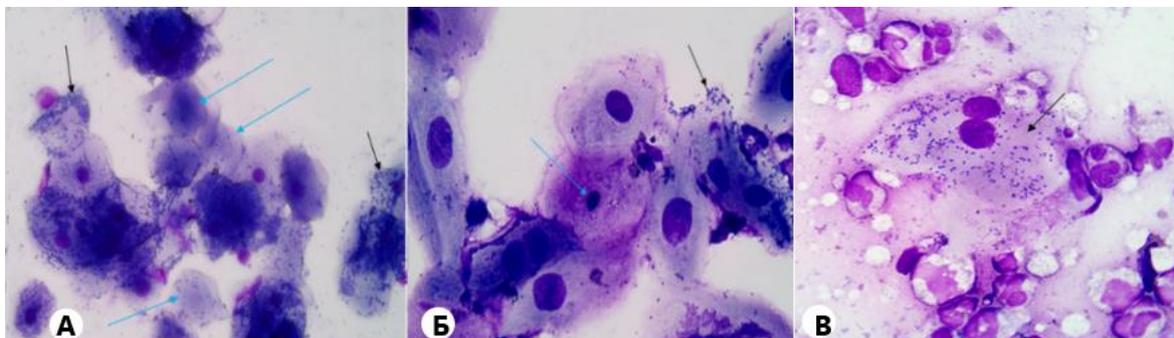


Рисунок 5. А. Микрофотография плоскоэпителиальных клеток преимущественно с лизированными ядрами (голубые стрелки). Цитоплазма многих клеток контаминирована кокковыми формами микроорганизмов (черные стрелки). 10X40. Б. Эпителиальные клетки разных стадий зрелости. Эпителиальные клетки с контаминированной микроорганизмами цитоплазмой (черная стрелка). Клетка с пикнотическим ядром (голубая стрелка). В. Двухъядерная эпителиальная клетка (черная стрелка), контаминированная бактериями, окружена лейкоцитами, увеличение 10x100. X100. Окрашено по Романовскому-Гимза.

В отдельных случаях встречались крупные гроздевидные скопления лейкоцитов, плотно прилежащих друг к другу. Часто в цитограммах наблюдалось контаминирование цитоплазмы эпителиальных клеток микроорганизмами (Рисунок 5, В). Типичным для группы «курение» было образование в цитограммах комплексов, в которых помимо сегментоядерных лейкоцитов, можно было видеть большое количество макрофагов, число которых возрастало в более отдаленные сроки, наблюдали образование тромбо-лейкоцитарных комплексов.

Таким образом, изучение морфологических характеристик клеточных элементов в цитограммах курящих пациентов, на ранних этапах после имплантации показало, что в отпечатках обнаруживались преимущественно плоскоэпителиальные клетки шиповатого типа, а также ороговевающие клетки (Рисунок 5, А). Однако, в части случаев уже на ранних сроках в цитограммах появлялись сегментоядерные лейкоциты и макрофаги. Через 6 месяцев в цитограммах, помимо лейкоцитов, обнаруживались в большом числе молодые эпителиальные клетки, что расценивалось как проявление репарационных тенденций в тканях, прилежащих к имплантатам.

Вещества, содержащиеся в сигаретном дыме, оказывают токсическое действие на метаболизм эпителиальных клеток.

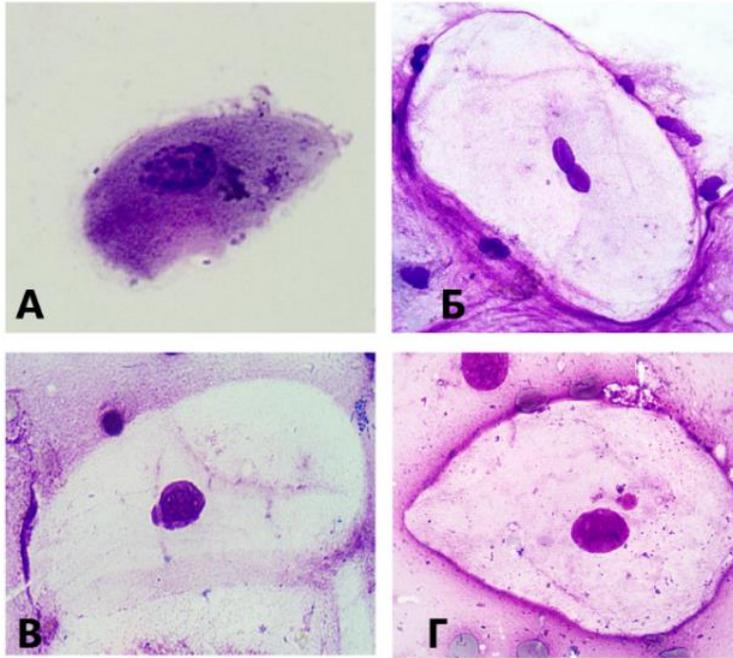


Рисунок 6. Аномалии ядер эпителиоцитов.

А - явление кариорексиса,

Б – двуядерная клетка,

В – протрузия ядра,

Г – микроядро, увеличение 10x100.

Окрашено по

Романовскому - Гимза.

Это характеризуется появлением клеток со значительными повреждениями ядра: появляются клетки с кариорексисом, пикнотическими ядрами (Рисунок 5, Б) и протрузиями ядра (Рисунок 6).

Курение на сегодняшний день является распространенной вредной привычкой, которая служит причиной развития воспалительных заболеваний полости рта, включая пародонтит и периимплантит. Цитоморфометрическое исследование показало развитие воспалительного процесса и увеличение сроков заживления.

Сравнительный анализ ВДИ и ИД у курящих и некурящих пациентов в динамике послеоперационного периода

По результатам исследования значимые различия наблюдаются между показателями значений ИД и ВДИ у курящих и некурящих пациентов после одноэтапной дентальной имплантации от 15 до 30 суток.

Графики демонстрируют очевидное повышение показателей ИД у курильщиков по сравнению с некурящими пациентами. Линия тренда предсказывает «выздоровление» курящих пациентов на 1 срок наблюдения позже, чем у некурящих пациентов (не 180, а 240 сутки) (Рисунок 7, А).

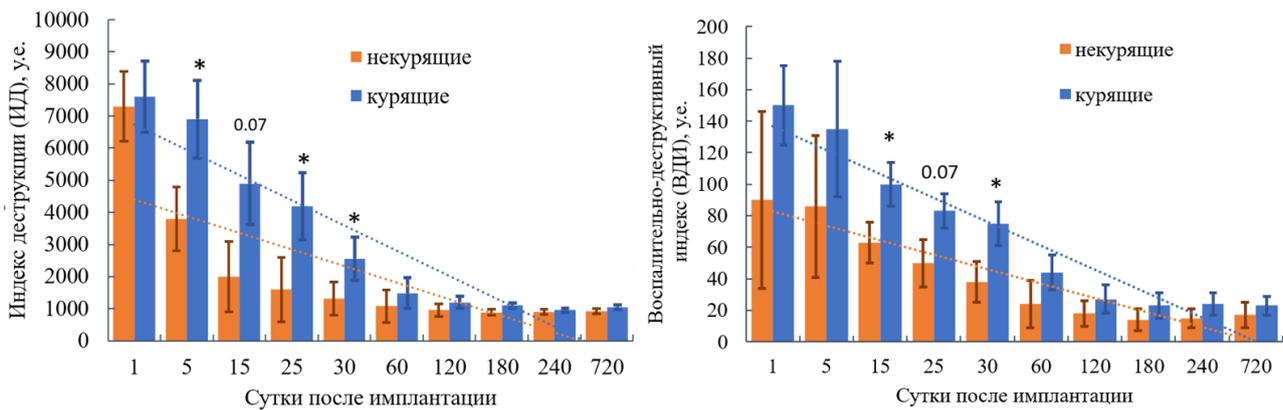


Рисунок 7. Динамика изменения средних значений индекса деструкции (ИД, у.е.) и воспалительно-деструктивного индекса (ВДИ, у.е.) у курящих ($n = 43$) и некурящих пациентов ($n = 47$). Пунктиром соответствующего цвета обозначен статистический тренд (линейная функция), * – $p < 0,05$, по t-критерию Стьюдента.

На рисунке наглядно видно, что средние значения ВДИ у курильщиков в сроки от 15 и до 30 суток были значимо выше, чем у некурящих пациентов, что можно объяснить нарушением метаболизма за счет токсического действия компонентов табачного дыма, приводящего, вероятно, при некоторых дополнительных условиях к хронизации воспалительного процесса (Рисунок 7, Б).

Применение цитоморфологического метода при крайних формах воспалительного процесса при дентальной имплантации.

Крайними формами воспаления при дентальной имплантации являются периимплантационный мукозит - воспаление мягких тканей и периимплантит – воспаление костной ткани.

Клиническим признаком периимплантатного мукозита является кровотечение при зондировании, а дополнительные признаки могут включать эритему, отек и нагноение. Причинно-следственная связь между экспериментальным накоплением бактериальных биопленок вокруг титановых дентальных имплантатов у пациентов и развитием воспалительной реакции была подтверждена в ряде работ [Heitz-Mayfield, L. J. A., 2018].

Прямое механическое повреждение клеток приводит к повышению уровня провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β и IL-6, которые нацелены на подслизистую оболочку и базальный эпителий, что вызывает повреждение более глубоких тканей. Возникающее в результате воспаление и повреждение тканей приводят к изъязвлению и последующей бактериальной колонизации, что еще больше подпитывает порочный круг опосредованного воспалительными цитокинами повреждения [Georgiou M, 2012].

Как пример возникновения мукозита, причиной которого стала бактериальная

инфекция можно привести данные пациента Б.В. Клиническая картина развилась через 2 недели после имплантации (Рисунок 8).



Рисунок 8. А. Фотография воспалительного процесса вокруг формирователя десны имплантанта 4.7 Б. Рентгенограмма. В. Цитограмма при периимплантном мукозите. Окрашено по Романовскому-Гимза.

Цитоморфометрические показатели ИД=6500 усл. ед, ВДИ=89 усл. ед. Через месяц на фоне активной терапии, проведения профессиональной гигиены, приема антибиотиков, цитоморфометрические показатели проявили тенденцию к снижению: ИД=1100 усл. ед, ВДИ=47,8 усл.ед.

В нашей работе развитие периимплантного мукозита наблюдалось у пациента с гепатитом С. В ранние сроки после имплантации в цитограммах пациентов с гепатитом С обнаруживались ороговевшие клетки, имеющие вид чешуек. Уже в эти ранние сроки в цитограммах отмечали признаки повреждения клеточных элементов, о чем, в частности, свидетельствовали обнаруживаемые здесь многочисленные апоптозные тельца (Рисунок 9).

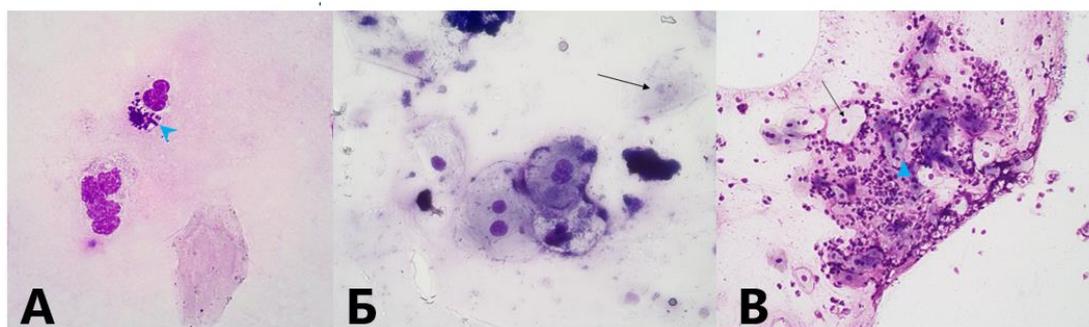


Рисунок 9. А. Апоптозные тельца (голубой наконечник), 10x100. Б. Клетки с кариолизисом (черная стрелка), 10x40. В. Цитограмма на 30 сутки, зрелые эпителиоциты – черная стрелка, молодые эпителиоциты - голубой наконечник стрелы, 10x10, окраска по Романовскому - Гимза

Наряду с этим в цитограммах отмечали большое количество макрофагов, эпителиальных клеток, подвергшихся аутофагии и присутствие клеток с признаками

кариолизиса. К 30 суткам после имплантации на фоне интенсивного воспалительно-инфильтративного процесса, вызывающего гибель части эпителиальных клеток, происходила компенсаторная регенерация эпителиальных клеток. В результате в цитограммах наблюдали резкое возрастание числа молодых эпителиальных клеток базального слоя (Рисунок 9, В).

Таким образом, результаты исследования показали выраженное многообразие патологических процессов и проявлений повреждения клеток. Важно подчеркнуть, что у пациентов с гепатитом С эти изменения наблюдали уже на ранних стадиях.

При изучении индексов ИД отмечали выраженное увеличение значений ИД и ВДИ во все сроки наблюдения. Несмотря на активные лечебные мероприятия, направленные на предупреждение послеоперационного осложнения, показатели ИД практически во всех точках наблюдений значительно превосходили нормальные значения. Клинически у пациента К. наблюдалось развитие периимплантного мукозита.

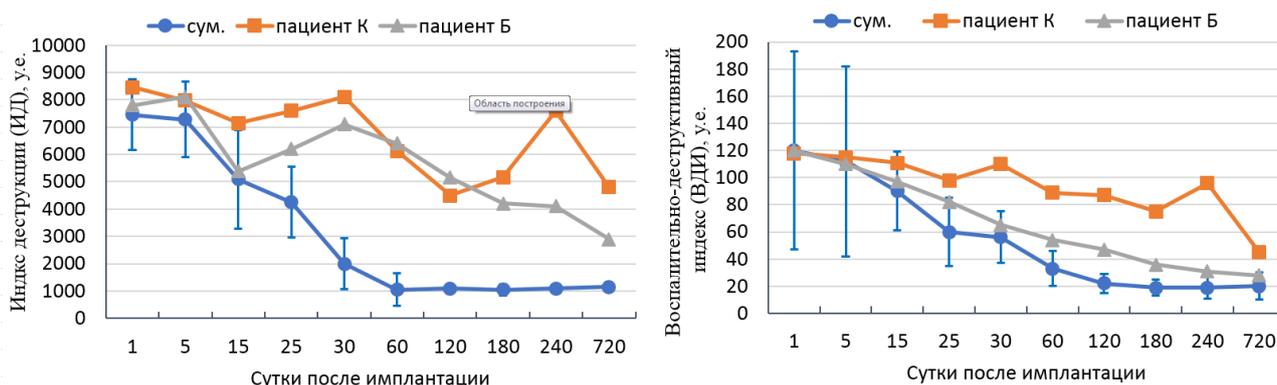


Рисунок 10. Сравнительная динамика показателей ИД (у.е.) и ВДИ (у.е.) пациентов К. и Б. с гепатитом С и общими показателями в исследуемой группе.

Значения ВДИ у пациентов с гепатитом С также заметно выше (Рисунок 10), чем в группе без осложнения, что, очевидно, свидетельствует о повышении по сравнению с нормой выраженности воспалительно-инфильтративных реакций тканей в периимплантационной области. У пациента К. значения индексов держатся на высоком уровне даже по сравнению с вторым пациентом Б. с гепатитом С.

Цитоморфологические показатели при периимплантите

В отличие от мукозита, периимплантит является прогрессирующим и необратимым заболеванием твердых и мягких тканей, окружающих имплантат, и сопровождается резорбцией кости, снижением остеоинтеграции, повышенным образованием карманов и гноетечением. Периимплантит представляет собой полимикробную анаэробную инфекцию.

В настоящем исследовании также были рассмотрены результаты применения дентальной имплантации у 2 пациентов с инсулиннезависимым сахарным диабетом 2-го типа. Опыт многочисленных клинических исследований убедительно свидетельствует о крайне низкой эффективности применения дентальной имплантации у пациентов с диабетом (Рисунок 11).

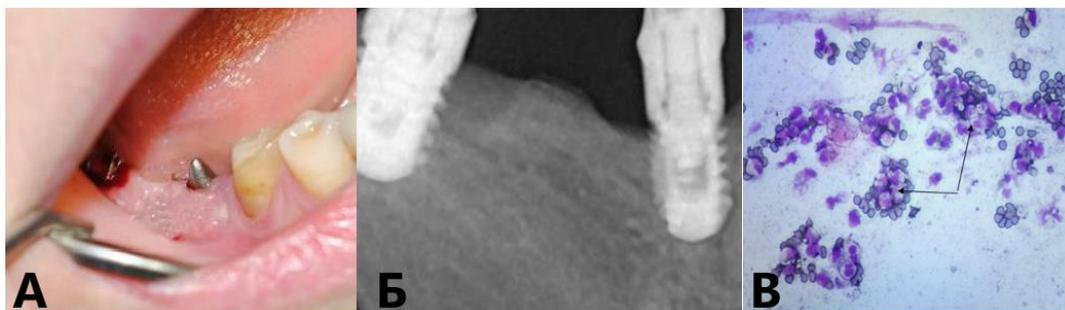


Рисунок 11. Цитограмма пациент Б-в В.М. с сахарным диабетом. **А.** визуально: отек, гиперемия слизистой оболочки десны, развитие грануляций, гнойное отделяемое из-под десны, **Б.** Рентгенограмма: резорбция костной ткани в области имплантатов. **В.** Цитограмма пациента Б-в В.М., 7 суток после имплантации. В цитограмме многочисленные комплексы из полинуклеаров (стрелки углом). В некоторых комплексах видны группы клеток, подвергшихся кариолизису. X10. Окрашено по Романовскому-Гимза.

В ранние сроки наблюдений (до 5 суток после имплантации) в цитограммах выявляли многочисленные комплексы из полинуклеаров. В цитограммах обнаруживали выраженные проявления деструкции цитоскелета лейкоцитов, что характеризовалось формированием по краям клетки бордюра из опалесцирующих капель, предположительно, жира. Еще одной характерной особенностью были часто встречающиеся в цитоплазме клеток полости типа аутофагосом. Размеры описанных полостей, содержащих бесструктурный материал, могли достигать значительных размеров (Рисунок 12).

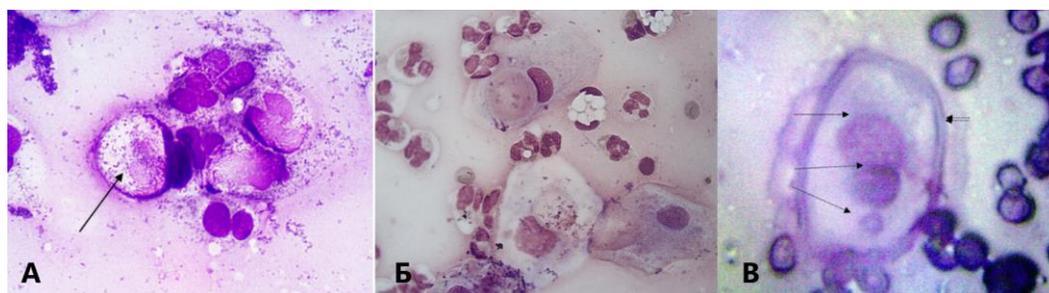


Рисунок 12. **А.** Цитограмма пациента Б-в В.М., 7 сут. после имплантации. Лейкоцит с образованием в нем аутофагосомы (одинарная стрелка), содержащей остатки разрушенного материала. 10X100. **Б.** Полостное образование (различима лишь одна мембрана) в цитоплазме плазме плоскоэпителиальной клетки. X40. **В.** Эпителиальная клетка с отчетливо видимым

ядром (**одинарная стрелка**) и ядра, внедрившихся в эпителиальную клетку, частью лизирующихся макрофагов (**стрелки углом**). Эти структуры заключены в гигантскую аутофагосому с хорошо различимой двойной мембраной (**сдвоенные стрелки**). X100. Окрашено по Романовскому-Гимза.

В отдельных случаях подобного типа полостные образования обнаруживались также и в плоскоэпителиальных клетках (Рисунок 12, Б).

Наращение числа этих клеток было связано образованием в области контакта «десна–имплантат» грануляционной ткани.

Изменения значений ИД у пациентов с сахарным диабетом после двухэтапной имплантации для наглядности в сопоставлении с пациентами группы без осложнений демонстрируют стойкий подъем на протяжении всех сроков наблюдения (Рисунок 13).

Показатели ВДИ у пациентов с сахарным диабетом, по которым можно судить об интенсивности воспалительно-инфильтративных процессов в области имплантатов, располагаются достаточно близко к показателям общей группы.

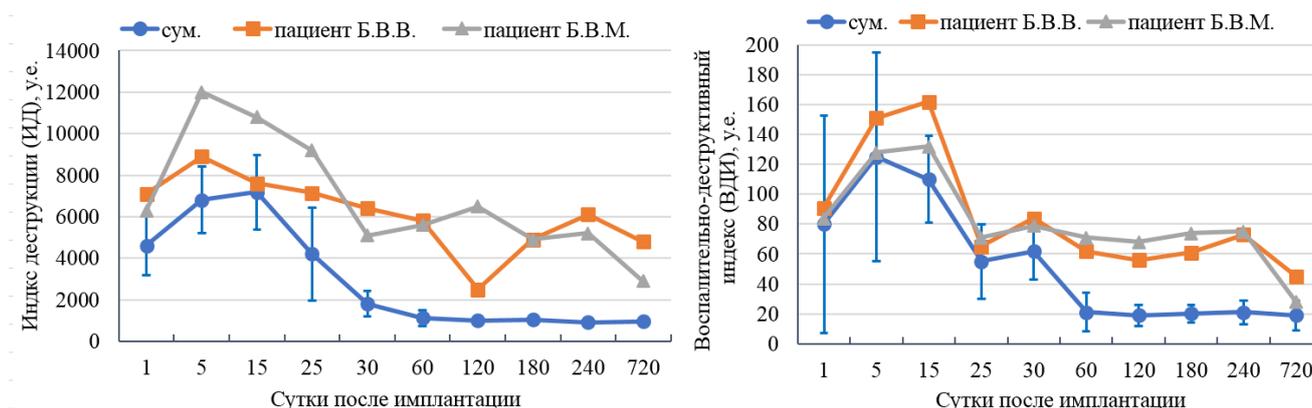


Рисунок 13. Динамика значений ИД (у.е.) и ВДИ (у.е.) у пациентов Б.В.М. и Б.В.В. с сахарным диабетом (после 2-этапной имплантации).

Лишь в отдаленные сроки отмечается их резкий подъем. Воспалительная реакция (по данным ВДИ) у пациентов с диабетом объясняется низким уровнем реактивности тканевого субстрата, в котором преобладают деструктивные, патологические процессы.

Микробная колонизация клеточных элементов цитогрaмм

Одним из важнейших факторов, оказывающих влияние на эффективность и продолжительность функционирования дентальных имплантатов, являются микроорганизмы и дериваты их жизнедеятельности, заселяющие поверхность зубов и имплантатов.

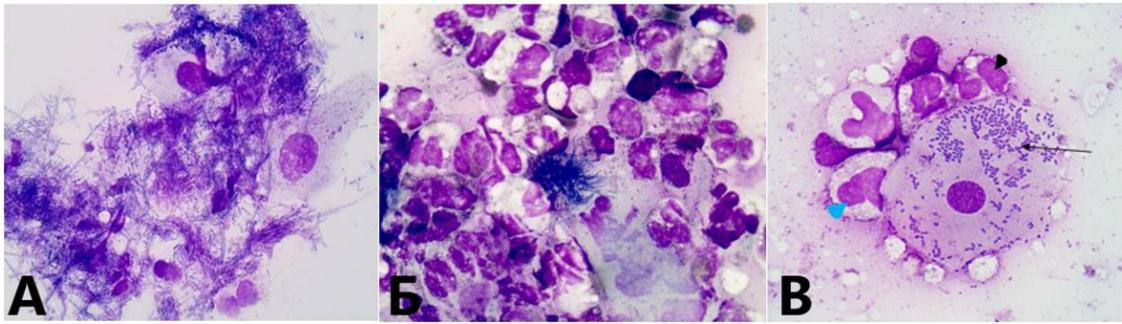


Рисунок 14. Примеры цитогрaмм с микробной колонизацией. **А, Б.** Колонизация цитоплазмы плоскоэпителиальных клеток кокковыми и палочковыми формами бактерий. Х40. Окрашено по Романовскому-Гимза. **В.** Эпителиальная клетка с контаминацией бактериями (**черная стрелка**) в окружении макрофагов (**синий наконечник**) и нейтрофилов (**черный наконечник**).

Общим для всех пациентов со злостным курением, течением гепатита С или сахарного диабета было такое часто встречающееся явление, как обильная микробная контаминация микроорганизмами, в том числе бактериальная внутриклеточная колонизация (Рисунок 14).

Появление микроорганизмов в цитоплазме клеток (обычно речь идет об эпителиальных клетках) следует рассматривать как проявление нарушения тканевого гомеостаза в периимплантационной зоне. Микроорганизмы, очевидно, включаются в патогенез постимплантационных осложнений в качестве фактора, нарушающего гомеостаз тканей, прилежащих к дентальным имплантатам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые цитоморфометрический метод был использован для контроля и оценки угрозы развития постимплантационных осложнений. Полученные нами данные позволяют утверждать, что начало воспалительного процесса в периимплантатных тканях проявляется изменением клеточного состава импланто-десневой борозды. При анализе морфологических характеристик клеточных элементов в цитограмах были обнаружены эпителиоциты с повреждениями цитоплазмы и ядра, признаки клеточной гибели, особенно при осложненном течении остеоинтеграции. Рассчитанные на основе цитогрaмм индексы ИД и ВДИ адекватно отражают клиническую картину. В работе представлены данные динамики индексов у курящих пациентов и пациентов с тяжелыми заболеваниями (диабетом и гепатитом С).

Данные ИД и ВДИ цитоморфометрического исследования, полученные нами у курильщиков, оказались значимо выше, чем в среднем у пациентов того же возраста без привычки курения. Процесс стабилизации тканей (заживления) был дольше, что

подтверждает информативность цитоморфометрической диагностики.

В рамках настоящего исследования наблюдалось несколько пациентов, у которых имплантологическое лечение было осложнено периимплантитом и, в дальнейшем, удалением имплантата. На всех сроках наблюдения у них отмечалось значительное повышение ИД и ВДИ в сравнении с нормальным течением в общей группе обследованных.

Можно говорить об образовании порочного круга, поскольку каждое следствие становится причинным фактором. Резорбция костной ткани, прилежащей к имплантату, приводит к увеличению подвижности имплантата, в результате нарастает воспалительная реакция на стрессорное воздействие нагрузок, что, в свою очередь, усиливает воспалительную реакцию, следствием которой служит усиление резорбции костной ткани, увеличивающей подвижность имплантата и т.д. Так создаются условия для развития в области имплантации необратимого хронического патологического процесса, в котором рука об руку идут тканевая деструкция и хронический воспалительный процесс [Persson С., 2012].

ВЫВОДЫ

1. Впервые показано, что цитоморфометрический метод, основанный на использовании индекса деструкции ткани и воспалительно-деструктивного индекса, объективно отражает состояние периимплантатных тканей после операции дентальной имплантации для неинвазивной диагностики развития осложнений раннего и позднего постоперационного периода.
2. Впервые установлено среднее цифровое значение цитоморфометрических индексов: индекса деструкции (1000 ± 240 у.е.) и воспалительно-деструктивного индекса (21 ± 7 у.е.) при нормальном течении остеоинтеграции дентальных имплантатов.
3. Цитоморфометрическими наблюдениями в динамике доказана негативная роль курения на ткани периимплантационной области в виде достоверного повышения средних показателей индекса деструкции и воспалительно-деструктивного индекса у курящих пациентов по сравнению с некурящими людьми.
4. Цитоморфометрические индексы отражают выраженность воспалительного процесса в периимплантатных тканях при наличии факторов риска: курения, контаминации патогенной микрофлорой, метаболических нарушений (сахарный диабет) или снижения защитной реакции организма (гепатит С).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Статьи в рецензируемых научных изданиях по специальностям

3.3.3. Патологическая физиология, 3.1.7. Стоматология, и приравненные к ним публикации.

1. **Рыбалко А.С.**, Орлов А.А., Григорьян А.С. Новые подходы в эстетической и функциональной реабилитации больных с травмой альвеолярных отростков и челюстей при полном и неполном вывихе зубов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2016. – №1. – С. 158–163. DOI: 10.12737/18447
2. **Рыбалко А.С.**, Григорьян А.С., Орлов А.А. Цитоморфометрическая характеристика отпечатков из области контакта десны и дентального имплантата при одноэтапной имплантации // Патогенез. – 2017. – Т. 15, №2. – С. 77–82. DOI: 10.25557/GM.2017.2.7306
3. Григорьян А.С., Орлов А.А., **Рыбалко А.С.** Морфологическая характеристика клеточных элементов в отпечатках из области контакта дентальных имплантатов с десной // Патогенез. – 2019. – Т. 17, №2. – С. 70–75. DOI: 10.25557/2310-0435.2019.02.70-75
4. Григорьян А.С., Орлов А.А., **Рыбалко А.С.** Влияние курения на состояние тканей, прилежащих к дентальным имплантатам, по данным цитоморфометрического исследования // Стоматология. – 2019. – Т. 98, №1. – С. 21–24. DOI: 10.17116/stomat20199801121
5. Рыбалко А.С., Орлов С.А. Факторы риска развития воспаления в послеоперационный период имплантации зубов // Патогенез. – 2022. – Т. 20, №4. – С. 78–84. DOI: 10.25557/2310-0435.2022.04.78-84
6. Алчинова И.Б., **Рыбалко А.С.** Аномалии ядра в эпителиальных клетках имплантно-десневой борозды // Патогенез. – 2023. – Т. 21, №2. – С. 70–73. DOI: 10.25557/2310-0435.2023.02.70-73

Материалы конференций (тезисы)

1. **Рыбалко А.С.**, Орлов А.А. Воспаление как фактор риска потери остеоинтеграции дентальных имплантатов // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сб. ст. по материалам LXII-LXIII Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования». – №7–8(58). – М., Изд. «Интернаука», 2022. DOI: 10.32743/25419854.2022.7-8.58.344594
2. Алчинова И.Б., **Рыбалко А.С.** Аномалии ядра в эпителиоцитах имплантно-десневой борозды при неосложненном течении и при воздействии табачного дыма

после дентальной имплантации. // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сб. ст. по материалам LXXIV Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования». – №7(68). – М., Изд. «Интернаука», 2023. DOI: 10.32743/25419854.2023.7.68.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВДИ – воспалительно-деструктивный индекс

ИД – индекс деструкции костной ткани

SLA – активированная поверхность дентальных имплантатов пескоструйной обработкой и кислотным травлением