

На правах рукописи

ЖЕУРОВА
Мария Олеговна

**АКТИВАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО
ГИСТИОНА ПРИ МУКОЗИТЕ И ПЕРИИМПЛАНТИТЕ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ставрополь – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России)

Научный руководитель:

Сирак Алла Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Власов Тимур Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, заведующий кафедрой;

Исламов Рустем Робертович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, заведующий кафедрой;

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2024 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского по адресу: 295051 г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» и на сайте <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ года.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.2.318.01
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень ее разработанности. В последнее время в клинической практике часто используют имплантационные методы при лечении пациентов с различными формами ортопедической патологии (Г.П.Котельников, 2022; M.Labussiere, 2021). В связи с этим возникает необходимость исследования влияния дентальных имплантатов на состояние тканей, которые контактируют с ним и требуют понимания механизмов процессов репарации и ремоделирования.

Большое количество исследований, посвященных воспалительным осложнениям дентальной имплантации – периимплантному мукозиту (ПМ) и периимплантиту, рассматривают проблему с точки зрения борьбы с воспалением десны и прогрессирующей потерей костной ткани (А.В.Шумский, 2021; I.-C.Wang, 2022;). Роль некоторых этиопатогенетических факторов, таких, как клетки десны, являющиеся представителями короткодистантных эффекторных систем, носителей вазоактивных аминов, а также сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) при различной степени повреждения десны при ПМ и периимплантите до конца не раскрыта.

Весь период онтогенеза человеческого организма осуществляется постоянное саморазрушение и образование новых элементов костной ткани взамен утраченных структур (Н.С.Моисеева, 2021; А.В.Иващенко, 2021; А.Monje, 2020). Непрерывность данных процессов обеспечивает физиологический ремоделирующий гистион – генеральная совокупность клеток соединительной ткани, включающая фрагмент МЦР с прилежащими волокнистыми структурами, называемый базисной многоклеточной единицей (А.Н.Кизим, 2022; S.Swarup, 2022).

В составе физиологического ремоделирующего гистиона на этапах регенерации клетки функционируют совместно, что объясняется положением о механотрансдукции: при изменении механических напряжений, воздействующих на кость, связанные с остеоцитами молекулы коллагена, остеоонектин, фибронектин, ламинин и фибриноген смещаются относительно друг друга (А.К.Иорданишвили, 2021; G.E.Salvi, 2022).

Известно, что жевательные нагрузки способствуют лучшей остеоинтеграции при условии стабильности дентального имплантата (Ю.В.Деминская, 2022; I.Sanz-Martín, 2021; L.Sbricoli, 2022). Однако, до настоящего времени неясным остается вопрос целесообразности функциональной нагрузки на систему кость-имплантат при воспалении, например, при периимплантите или в раннем посттравматическом периоде после восстановления дефекта костной ткани с использованием костнозамещающих препаратов. В этой связи, роль механотрансдукции в активации физиологического ремоделирующего гистиона в условиях воспаления нуждается в уточнении.

Цель исследования – установить особенности физиологического ремоделирующего гистиона соединительной и костной тканей вокруг дентального имплантата в условиях воспаления при жевательной нагрузке.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальные модели периимплантного мукозита и периимплантита, изучить гистологические, иммуногистохимические и биохимические показатели остеогенеза в периимплантной зоне в ближайшем и отдаленном периодах.

2. На модели экспериментального периимплантита провести анализ качественных и количественных характеристик показателей доли ретикулофиброзной и пластинчатой костной ткани при пластике периимплантного дефекта остеопластическим материалом, при заживлении раны под кровяным сгустком в статике и при жевательных нагрузках.

3. Дать морфометрическую оценку распределения показателей клеточного и ферментного асорциума микроциркуляторного русла десны у пациентов с периимплантным мукозитом и периимплантитом.

4. Оценить влияние нарушения взаимодействия клеток десны и сосудов микроциркуляторного русла на прогрессирование воспаления при периимплантном мукозите и периимплантите.

Научная новизна исследования. Впервые на клеточном и тканевом уровнях получено подтверждение изменения скорости процессов моделирования и ремоделирования костной ткани при периимплантите под влиянием функциональных жевательных нагрузок.

Впервые установлено, что жевательные нагрузки в сроки 1-2 месяца не способны существенным образом улучшить качественные характеристики регенерата, а скорость отложения остеоида и минерализация вдоль коллагеновых волокон не зависят от площади и объема деформированной костной ткани.

Установлено, что количественные и качественные изменения лимфоцитарного и макрофагального звеньев в периимплантных тканях коррелируют с прогрессированием воспалительного процесса от нормы к периимплантному мукозиту и периимплантиту.

Поступательное повышение числа лимфоцитов в тканях десны при воспалении, снижение количества гистиоцитов при увеличении содержания тучных клеток при ПМ и увеличение доли гистиоцитов со снижением числа тучных клеток при периимплантите – патогенетическое звено реактивности тканей при инфильтративном и пролиферативном воспалении с появлением новых клеточных ассоциаций воспалительных макрофагов системы мононуклеарных фагоцитов.

Установлено, что эксудативное воспаление в строме десны при ПМ характеризуется увеличением числа зернистых лейкоцитов и снижением числа плазматических клеток, что обеспечивает усиление клеточного иммунитета на фоне снижения гуморального иммунитета. При развитии периимплантита отмечается увеличение числа агранулоцитов, а также уменьшение количества зернистых лейкоцитов и плазмоцитов по сравнению с данными показателями при ПМ, что отражает снижение реактивности тканей при усугублении воспаления.

Анализ корреляционных межструктурных взаимоотношений клеток стромы с ферментативной активностью в МЦР при ПМ свидетельствует о стабильно низкой активности клеток фибробластического дифферона, снижении гликогенеза и энергетического потенциала в тканях, а при периимплантите – о нарушении клеточного и ферментативного звеньев гомеостаза с вовлечением в патологический процесс всего комплекса периимплантных тканей.

Теоретическая и практическая значимость работы. Впервые в ассоциативное поле патофизиологии введено новое понятие об ассорциуме клеток комплекса периимплантной зоны, как генеральной совокупности тканей с иммунокомпетентными клетками, ответственными за ангио- и остеогенез.

Экспрессия в клетках стенок кровеносных сосудов Ki-67, виментина, CD 34 является показателем стадийности репаративного остеогенеза с активизацией костного мезенхимального компонента, что может быть использовано в качестве контроля эффективности терапии ПМ и периимплантита.

Увеличение количества клеток фибробластического дифферона с экспрессией виментина в клетках сосудов под влиянием жевательных нагрузок подтверждает патогенетическую роль пролиферации стволовых эндотелиальных клеток при механотрансдукции.

Впервые разработан способ создания патофизиологической экспериментальной модели периимплантита (патент РФ на изобретение №2730970 по заявке №2019137611 (074291) от 21.11.2019).

Методы исследования. Работа имеет клиничко-экспериментальный характер. Диссертационное исследование имеет клиничко-экспериментальный характер.

В экспериментальной части исследования использованы: моделирование ПМ и периимплантита у овец, рентгенологические методы, морфологические методы (макроскопический метод, гистологические методы, морфометрия), ИГХ метод (определение уровня экспрессии маркеров виментина, Ki-67, CD 34). Для исследований пациентов использованы: общеклинические методы (сбор анамнеза, осмотр, физикальные методы), клиничко-лабораторные методы (рентгенологическое исследование, биохимическое исследование ферментного состава (спектрофотометрия) биоптата десны), морфологические методы (гистологическое исследование, морфометрия клеточного состава), ИГХ метод (определение уровня экспрессии маркеров виментина, Ki-67, CD 34).

Для обработки цифровых показателей использованы параметрические и непараметрические методы статистического анализа.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Жевательные нагрузки после пластики периимплантного дефекта костной ткани при периимплантите запускают механизм активации формирования физиологического ремоделирующего гистиона, обеспечивающий качественные характеристики ремоделирования костной ткани в срок 3 и 7 месяцев, что наиболее эффективно способствует стимулированию полноценного остеогенеза.

2. Характер клеточного взаимодействия при периимплантном мукозите характеризуется снижением силы связи лимфоцитов и палочкоядерных нейтрофилов и ростом прямой сильной корреляционной связи количества тучных клеток и лимфоцитов, что обеспечивает качество инфильтративных и экссудативных процессов при воспалении и последующей пролиферации.

3. Характер клеточного взаимодействия при периимплантите определяется восстановлением связи макрофаг-гистиоцит и лимфоцит на фоне сильной прямой корреляционной связи количества лимфоцитов и тучных клеток, в связи с чем, изменения взаимодействия клеток стромы десны можно рассматривать как диагностический критерий для оценки степени активации физиологического ремоделирующего гистиона при периимплантном мукозите и периимплантите.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности полученных результатов, обоснованность выводов и их соответствие заявленным задачам работы определяется достаточным объемом выборки при проведенном исследовании, количеством наблюдений при проведении объективных методов диагностики. Достоверность полученных результатов также определяется использованием метрологически поверенных средств измерения.

Материалы диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах, включая научно-практическую конференцию с международным участием «Неделя вузовской науки. Взгляд в будущее» (Москва, 20-22.09.2018), Северо-Кавказскую научно-практическую конференцию с международным участием (Ставрополь, 15-17.04.2018), VI открытую международную научно-практическую конференцию «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22-25.11.2019), IV Международный конгресс по дентальной имплантологии (Минск, 05-06.03.2020), международной научно-практической конференции «День высокой стоматологии в Республике Беларусь-2020» (Минск, 03-04.04.2020 в формате видеоконференции) и Международной научно-практической конференции «День высокой стоматологии в Республике Беларусь – 2023» (Минск, 30-31.03.2023).

Личный вклад автора. Соискателем лично проведен первичный патентно-информационный поиск по исследуемой проблеме медицины, составлен план и очерчен круг научных источников для обзора литературы, разработана экспериментальная модель периимплантита. Экспериментальные и клинические исследования проведены автором совместно с сотрудниками научно-диагностического и лечебного ветеринарного Центра при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и кафедр гистологии и стоматологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет». Статистический анализ полученных результатов проведен лично диссертантом, также самостоятельно осуществлены все экспериментальные разделы исследования. Совместно с научным руководителем проведен анализ и обобщение результатов экспериментальных исследований, сделаны выводы и практические

рекомендации. Научные публикации, текст диссертации и автореферат написаны автором лично.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 9 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, включая 2 патента на изобретение. Общий объем публикаций составил 14 печатных листов, личный вклад 70%.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 179 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который включает 208 источников, из них 84 отечественных и 124 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 43 рисунками и микрофотографиями, 2 блок-схемами и содержит 20 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Перечень и содержание выполненных этапов исследования, содержащихся в соответствующих главах диссертации, представлен в таблице 1.

Таблица 1. Краткий перечень выполненных экспериментальных и лабораторных исследований

Субъекты и объекты исследования	Перечень проведенных исследований	Кол-во
1	2	3
Экспериментальные исследования		
Овцы	Моделирование ПМ	4
Овцы (нижняя челюсть, верхняя челюсть)	Моделирование периимплантата	8
Всего:		12
Клинические исследования		
Биоптаты десны и альвеолярной кости, контрольная группа	Пациенты с зубами, удаленными по ортодонтическим показаниям	12
Биоптаты десны и альвеолярной кости, основная группа	Пациенты с ПМ (без рентгенологических признаков утраты кости вокруг имплантата)	65
Биоптаты десны и альвеолярной кости, основная группа	Пациенты с периимплантитом (с рентгенологическими признаками резорбции кости вокруг имплантата)	52
Всего:		129

Гистологические и ИГХ исследования		
Препараты костной ткани, полученные в ходе эксперимента и клинико-морфологического исследования	Гистологические, морфологические и ИГХ исследования	1316
Всего:		1316
Рентгенологические исследования		
Экспериментальные животные, пациенты с мукозитом и периимплантитом	Рентгенологический контроль	412
Всего:		412
Статистические исследования		
Результаты, полученные при обработке фактических данных по видам исследований и группам пациентов	Методы параметрического и непараметрического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016	1622
Всего:		1622

Моделирование ПМ проводили на 4 овцах Северокавказской породы возрастом 2-2,5 года (по 2 животных в основной и контрольной группе), содержащихся в обычных условиях загона на привычном рационе кормления. Для установки винтовых дентальных имплантатов все животные погружались в наркоз. Формировали воспаление в слизистой оболочке вокруг верхней трети дентального имплантата без удаления кортикальной кости. Для создания модели ПМ провоцировали воспаление пародонта, наматывая хлопчатобумажную нить, предварительно замоченную в мясо-пептонном агаре с патогенными культурами микроорганизмов, на выступающую часть дентального имплантата. В контрольной группе животных (2 животных, 4 дентальных имплантата) хлопчатобумажную нить вокруг установленных дентальных имплантатов не размещали.

Моделирование периимплантита проводили на 8 овцах Северокавказской породы в возрасте 1-1,5 года (по 4 животных в основной и контрольной группе), содержащихся в обычных условиях загона на привычном рационе кормления. Для установки винтовых дентальных имплантатов все животные погружались в наркоз. Моделирование экспериментального периимплантита производили путем создания искусственного дефицита альвеолярной кости в верхней 1/3 дентального имплантата с удалением фрезой кортикальной кости без охлаждения водой. Для создания модели периимплантита провоцировали воспаление, наматывая хлопчатобумажную нить, предварительно замоченную в мясо-пептонном агаре с патогенными культурами микроорганизмов, на выступающую часть дентального имплантата.

После окончательного формирования модели периимплантита, в основной группе (4 животных, 16 имплантатов) нить удаляли, а сформированный дефект вокруг имплантата заполняли комбинацией гидроксиапатита кальция с β -трикальцийфосфатом, модифицированных гиалуроновой кислотой (рисунок 1 – а),

затем устанавливали на дентальные имплантаты коронки из быстротвердеющей акриловой пластмассы (рисунок 1 – б).

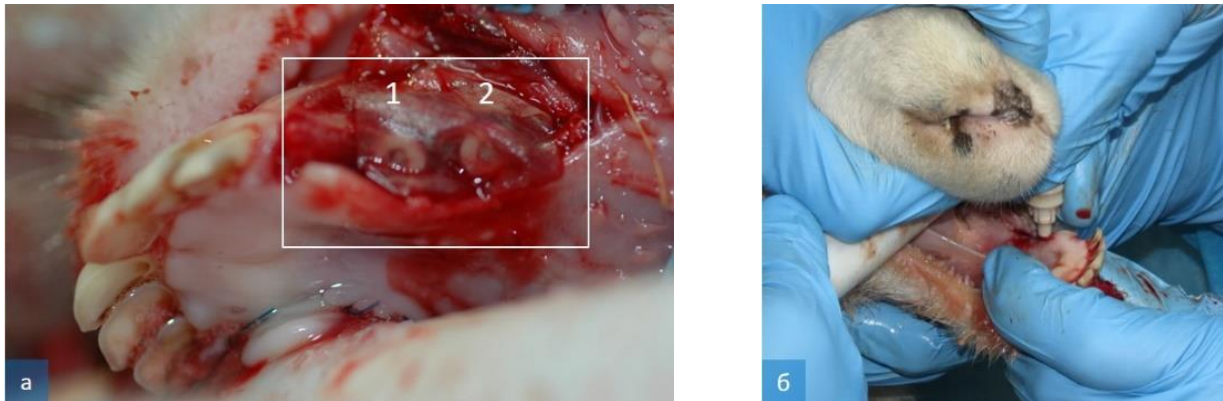


Рисунок 1. Хирургический этап эксперимента. Дентальные имплантаты (1, 2), установленные на нижней челюсти (а), проверка стабильности установленного дентального имплантата перед припасовкой коронки (б)

У каждого животного дентальные имплантаты устанавливали в различных зонах челюстей: в зубном ряду фронтального участка – на месте удаленного резца (для исследования интенсивности репаративной регенерации кости (ИРРК) при жевательных нагрузках, основная группа) и в боковом беззубом отделе (для исследования ИРРК в статике, группа сравнения).

Животным контрольной группы также устанавливали коронки из быстротвердеющей стоматологической пластмассы, костный дефект вокруг них подвергали регенерации под кровяным сгустком.

Через 1, 3 и 7 месяцев под общим обезболиванием дентальные имплантаты отделяли от окружающих тканей (рисунок 2 – а) и удаляли вместе с близлежащими тканями (рисунок 2 – б), рану ушивали (рисунок 2 – в). Костные блоки промывали водой, помещали в раствор нейтрального формалина и отправляли на гистологическое и ИГХ исследование.

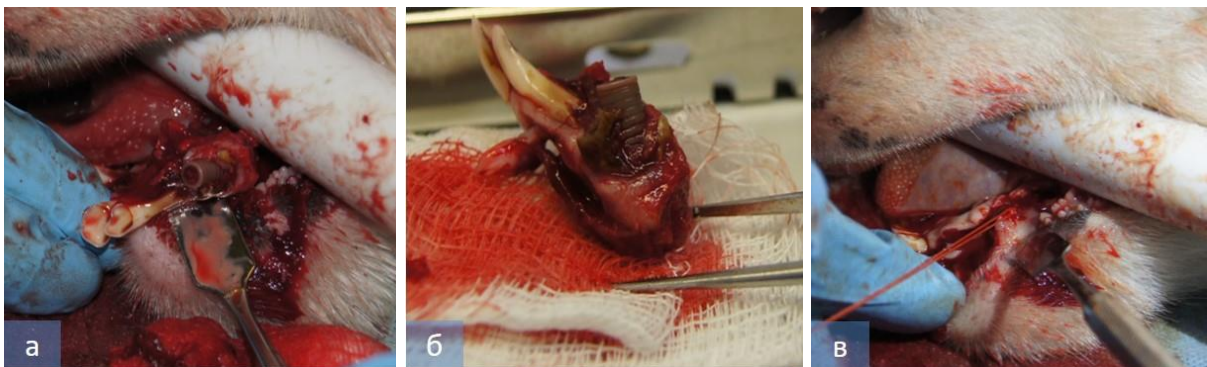


Рисунок 2. Этапы экспериментального моделирования периимплантита

Материалы и методы клиническо-морфологического исследования. Клинико-морфологическое исследование проведено у 117 пациентов с воспалением

вокруг установленных дентальных имплантатов: у 55,5% (65 пациентов) выявлен ПМ, у 44,5% (52 пациента) – периимплантит, контролем служила десна без признаков воспаления, взятая у практически здоровых людей (12 пациентов).

Материалы и методы лабораторной части исследования. Гистологическое исследование проводили по общепринятой методике, препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори, Массону и Ван-Гизону.

Микроскопия полученных гистологических микропрепаратов проводилась с использованием микроскопа Olympus BX45. Морфометрию микропрепаратов проводили с помощью программы ВидеоТест-Морфология 5.0.

ИГХ исследование проводили с использованием моноклональных мышечных антител к виментину, CD 34 и к Ki-67. Все исследуемые образцы подвергали предварительной декальцинации с использованием авторской методики (Патент 2797130. Способ бескислотной декальцинации образца костной ткани перед гистохимическим исследованием. С.В.Сирак., Е.С.Сирак, А.Г.Сирак и др.; 31.05.2023).

Спектрофотометрия активности ферментов в капиллярах проводилась с использованием лабораторного спектрофотометра.

Материалы и методы рентгенологического исследования. Рентгенологическое исследование выполняли с использованием рентгенологического аппарата Evolution и мобильного радиовизиографа Mercury.

Материалы и методы статистической обработки данных. Все полученные в ходе гистологического и ИГХ исследования данные статистически обрабатывались с применением параметрических и непараметрических методов анализа, полученные значения исследовали с помощью методов описательной статистики. Количественные показатели анализировали после построения вариационных рядов с определением границ доверительного интервала в 95%.

Результаты исследования и обсуждение. Через 1 месяц после начала функциональных нагрузок на имплантаты в оперированной области отмечается зрелая соединительная ткань периоста, сращенная с молодой ретикулофиброзной костной тканью.

В этот же срок в препаратах периоста группы сравнения визуализирована зона с разнонаправленным расположением коллагеновых волокон.

Через 3 месяца сформированная соединительная ткань врастает в оперированную область, абсорбирует гранулы костнозамещающего препарата, формируя межклеточное вещество, а клетки остеобластической дифференцировки заменяются остеобластами, (рисунок 3 – а).

Скорость формирования костных структур в группе сравнения в сроки 4 месяца несколько отстает от основной группы. Новообразованный регенерат представлен костной массой, от которой отходят костные балки.

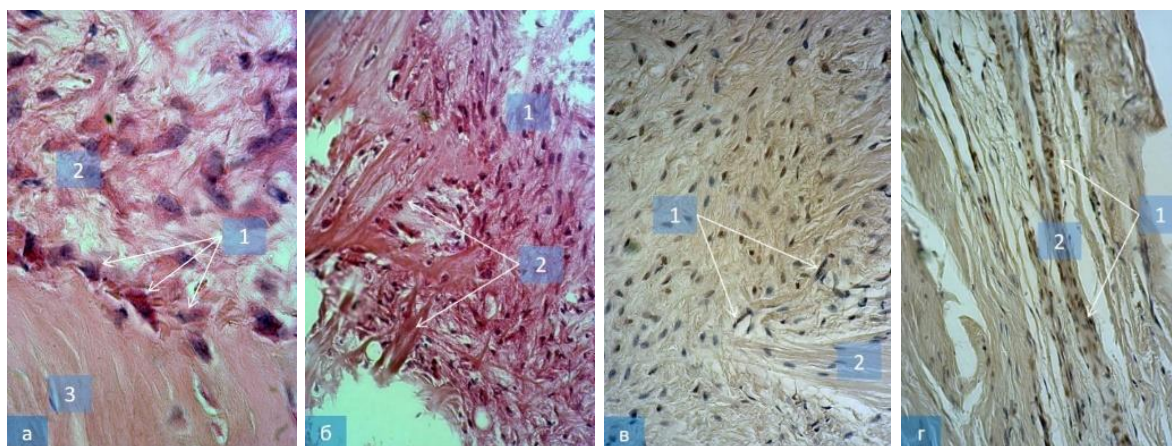


Рисунок 3. Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного через 3 (а), 4 (в) и 5 (б, г) месяцев после операции. а – скопление остеобластов (1) на границе ретикулофиброзной (2) и пластинчатой (3) костной ткани (основная группа). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1000; б – ремоделирование губчатого компонента кости в ретикулофиброзную ткань (1) с оголением волокнистого компонента (2) матрикса кости (группа сравнения). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400; в – Ki-67+ клетки (1) возле костных трабекул в зоне контакта (2) с регенератом (основная группа). ИГХ реакция на Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Увеличение 400; г – Ki-67+ клетки (1) в стенке формирующихся кровеносных сосудов (2) МЦР (основная группа). ИГХ реакция на Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Увеличение 400

Через 5 месяцев в основной группе между костными балками полностью сформированы межтрабекулярные полости, в которых разрослась рыхлая соединительная ткань. Она содержит сосуды МЦР и большое количество клеток остеобластической дифференцировки (рисунок 3 – б).

При ИГХ исследовании в исследуемых образцах обеих опытных групп выявлен Ki-67. Экспрессия его интенсивная (3 балла). В группе сравнения Ki-67+ клетки визуализируются только в зрелой соединительной ткани в зоне контакта с регенератом (рисунок 3 – в). Наиболее интенсивная экспрессия маркера выявляется в препаратах основной группы в клетках остеобластической дифференцировки (рисунок 3 – г).

В контрольной группе в сроки исследования 1-7 месяцев в тканях отмечена воспалительная инфильтрация. На ранних сроках (1-3 месяца) кровяной сгусток подвергся полному распаду с признаками некротизации, позднее (5-7 месяцев) отмечались явления ремоделирования губчатого компонента кости в ретикулофиброзную костную ткань.

При анализе динамики изменения площади ретикулофиброзной костной ткани в основной группе было отмечено достоверное ее снижение с 3 по 7 месяц исследования (с $1079794,0 \pm 42365,82$ мкм² до $211629,0 \pm 13728,68$ мкм²). В то же время в основной группе отмечалось достоверное увеличение площади пластинчатой костной ткани с 4 по 7 месяцы исследования – с $960934,13 \pm 51491,34$ до

3289167,84±260289,83 мкм². Анализ динамики изменения площади костной ткани в группе сравнения показал достоверное снижение площади ретикулофиброзной костной ткани с 3 по 5 месяц исследования (с 1465405,00±120579,07 мкм² до 775430,00±40941,69 мкм²) и в 7 месяц эксперимента – до 471250,66±17089,29 мкм². При анализе изменения площади пластинчатой костной ткани в группе сравнения отмечалось достоверное ее увеличение с 4 по 7 месяцы исследования – с 422523,95±280936,21 до 962100,00±152425,58 мкм². При анализе динамики изменения площади костной ткани в контрольной группе отмечалось достоверное снижение площади ретикулофиброзной костной ткани на 2 месяце эксперимента, составившее 843236,00±20013,34 мкм² и в период с 4 по 7 месяц исследования, с 1047277,00±42168,56 мкм² до 571505,00±64676,87 мкм². Кроме того, наблюдалось достоверное увеличение площади пластинчатой костной ткани с 4 по 7 месяцы исследования – с 378980,80±23895,98 до 974325,92±54041,29 мкм².

При визуальной оценке подвижного клеточного состава в микропрепаратах при ПМ отмечается большое количество клеток соединительной ткани (рисунок 4 – а), при периимплантите отмечено формирование стаза в сосудах МЦР (рисунок 4 – б).

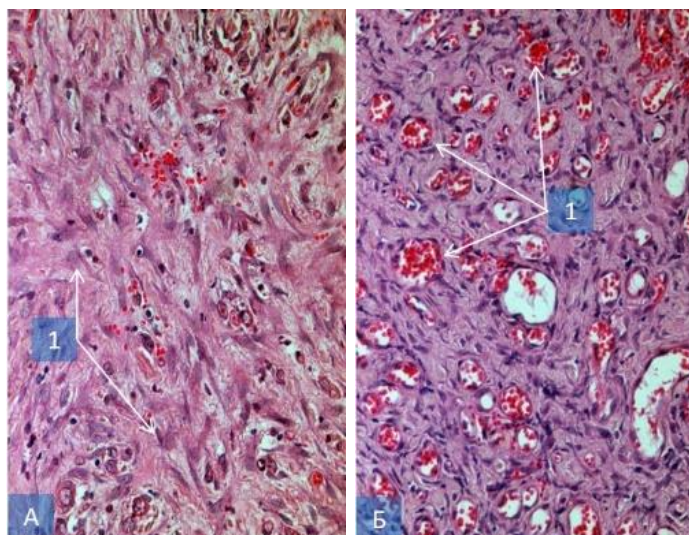


Рисунок 4. Биоптат десны при ПМ (а) и периимплантите (б). а – пролиферация фибробластов (1). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400; б – стаз сосудов МЦР (1). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

В препаратах здоровой десны среди агранулярных лейкоцитов наиболее часто встречались лимфоциты – 9 (57,6%) и макрофаги – 5 (32,0%). Количество гранулярных клеток и плазмочитов в исследуемых препаратах десны в норме оказалось незначительным – палочкоядерных нейтрофилов – 0,12 (0,8%), эозинофилов – 0,15 (1,0%), тучных клеток – 0,83 (5,3%), плазматических клеток – 0,53 (3,4%).

Изучение спектрофотометрической активности коферментов и гидролитических ферментов в сосудах МЦР десны в норме показало, что наибольшей активностью среди них обладала щелочная фосфатаза (ЩФ), составившая 62 единиц оптической плотности (42,5%). Оптическая плотность никотинамидадениндинуклеотида (НАД) составила 29 единиц (19,9%), никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ) – 17 единиц (11,6%). Оптическая плотность аденозинтрифосфатазы (АТФ) и кислой фосфатазы (КФ) оказалась одинаковой, составив 19 единиц оптической плотности (13,0%).

Совокупность агранулярных лейкоцитов, инфильтрировавших строму десны в препаратах, полученных от пациентов с ПМ, также была в основном представлена лимфоцитами – 10 (59,7%) и макрофагами – 4 (23,9%). Тучные клетки были представлены в количестве 1,09 (6,5%), палочкоядерные нейтрофилы – 0,93 (5,5%), плазмоциты – 0,48 (2,9%), эозинофилы – 0,26 (1,6%).

При ПМ в ферментативном ряду МЦР собственной пластинки слизистой оболочки наибольшая активность наблюдалась у ЩФ и НАД – 55 (40,1%) и 30 (21,9%) соответственно. Активность НАДФ+ составила 20 (14,6%), АТФ-азы – 17 (12,4%), а КФ – 15 оптических единиц (10,9%).

Клеточный пул, инфильтрирующий строму десны при периимплантите был представлен лимфоцитами – 17 (48,7%) и макрофагами – 16 (45,8%). Абсолютное количество тучных клеток составило 0,95 (2,7%), палочкоядерных нейтрофилов – 0,45 (1,3%). Плазмоцитов, лежащих в эпителии и соединительной ткани десны обнаружили в количестве 0,32 (0,9%), а эозинофилов – 0,2 (0,6%).

Изучение активности ферментов в капиллярах собственной пластинки десны при помощи спектрофотометрии показало, что наибольшей активностью среди гидролитических ферментов и коферментов у пациентов с периимплантитом, обладала ЩФ – 48 единиц оптической плотности (38,6%) и НАД – 28,5 (22,9%). Активность НАДФ+ составила 19 (15,3%), КФ – 15 (12,0%), а АТФ-азы – 14 (11,2%).

Хронизация воспалительного процесса в периимплантных тканях сопровождалась включением тучных клеток в систему межклеточного взаимодействия. Полученные данные отражают степень нарастания кинетики воспалительной иммунной реакции и трансэндотелиального транспорта в сосудах МЦР, сопряженную с нарушением взаимодействия клеток стромы десны. Данное обстоятельство подтверждает важную роль разрыва контактной взаимосвязи клеток вследствие прогрессирования патологических процессов в периимплантных тканях при ПМ и периимплантите (рисунок 5).

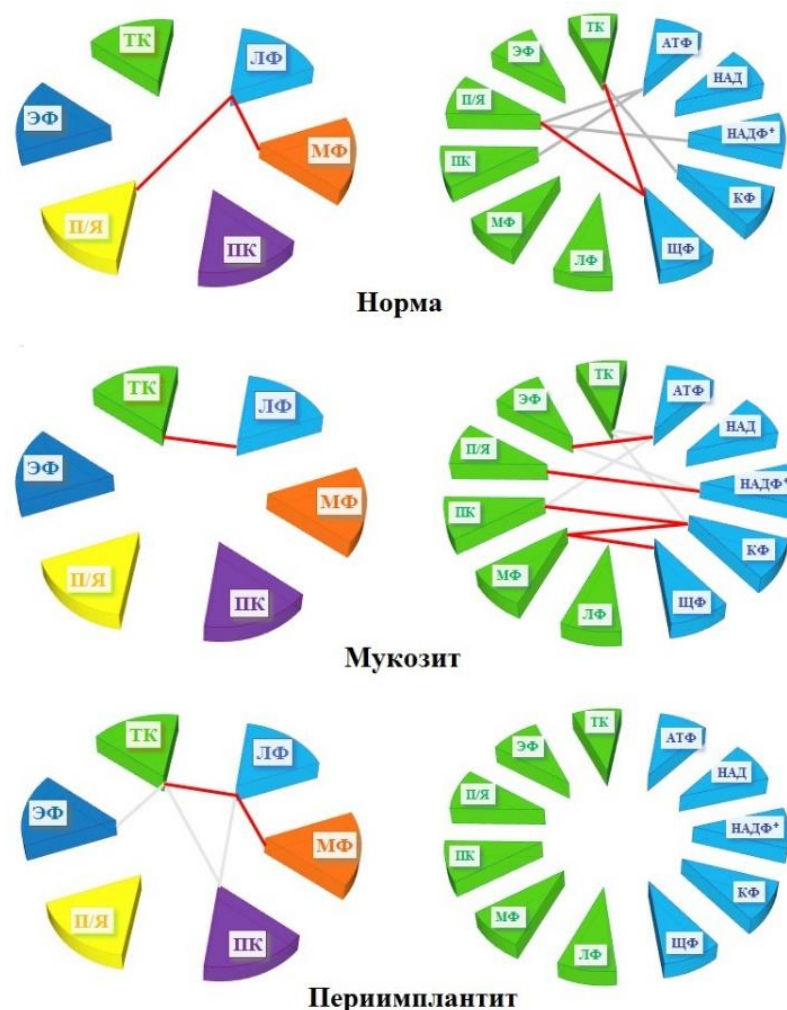


Рисунок 5. Изменение контактных взаимосвязей между компонентами собственной пластинки соединительной ткани десны и сосудов МЦР на разных этапах периимплантного воспаления (обозначения: красная линия – прямая корреляционная зависимость, серая линия – обратная корреляционная зависимость; ЛФ – лимфоцит, МФ – макрофаг, ЭФ – эозинофил; П/Я – палочкоядерные лейкоциты, ТК – тучные клетки, ПК – плазматические клетки; АТФ – аденозинтрифосфатаза, НАД – никотинамидадениндинуклеотид, НАДФ⁺ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат, КФ – кислая фосфатаза, ЩФ – щелочная фосфатаза)

Выявленная закономерность нарушения взаимодействия клеток стромы десны при ПМ и периимплантите свидетельствует о нарушении кинетики воспалительной иммунной реакции и трансэндотелиального транспорта в сосудах МЦР.

ИГХ-реакция на виментин в микропрепаратах собственной оболочки десны в норме, при ПМ и периимплантите оказалась сильноположительной и выраженной положительной – от 67,12% до 93,88% клеток и межклеточных структур, содержащих пигмент, что отражает усиление воспалительных процессов от нормы к ПМ и периимплантиту.

ИГХ-реакция на Ki-67 в норме, при ПМ и периимплантите соответствовала индексам 2, 3 и 4 (умеренно положительная, сильноположительная и выраженная положительная), и находилась в диапазоне 42,57%-91,33% клеточных структур, что объясняется увеличением пролиферации клеток соответственно усилению воспалительного процесса.

При оценке активности ИГХ-реакции на маркер образования эндотелия CD 34⁺, обнаружили, что все исследованные препараты имели 3 и 4 индекс активности (сильноположительная и выраженная положительная), что отражает увеличение активности образования сосудов МЦР при развитии ПМ и снижение активности ангиогенеза при переходе ПМ в периимплантит.

Активация физиологического ремоделирующего гистиона наиболее ярко прослеживалась под влиянием жевательных нагрузок, причем наибольшая активность клеток фибробластического дифферона, увеличение пролиферативной активности других клеток мезенхимного происхождения и ускорение формирования сосудов МЦР при оценке ИГХ-реакции на виментин, Ki-67 и CD 34⁺ в препаратах с периимплантитом, отражает активизацию адаптационных механизмов, сопровождающееся восстановлением связей клеточных и межклеточных элементов (рисунок 6).

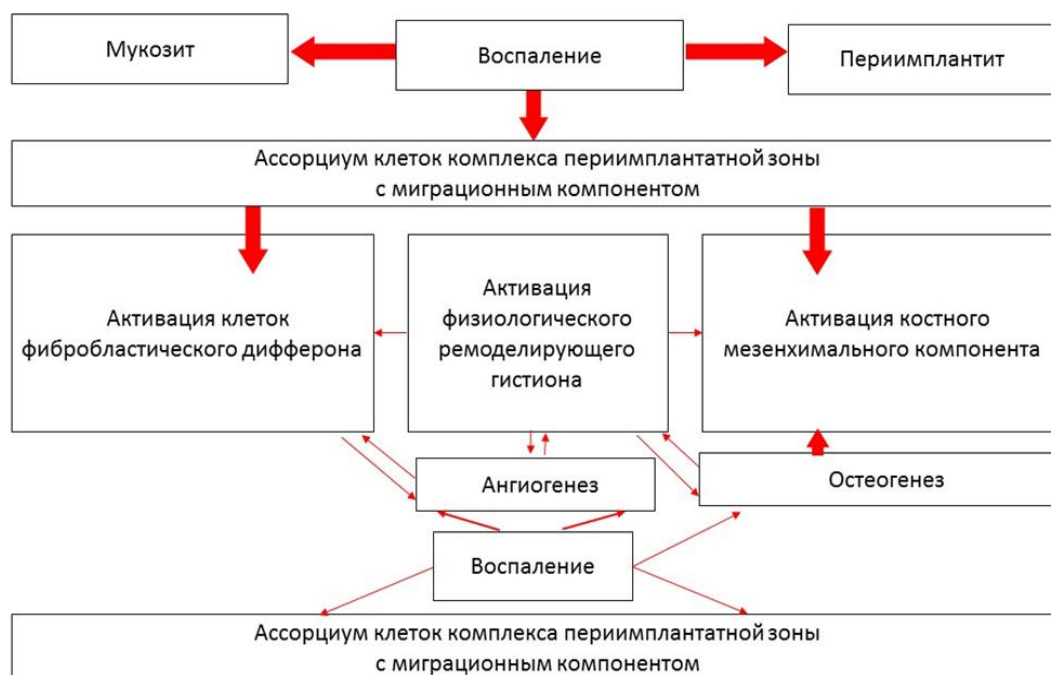


Рисунок 6. Активация физиологического ремоделирующего гистиона с формированием ассорциума клеток с миграционным компонентом в ответ на развитие воспаления в периимплантной зоне

Данные проявления изменения средней яркости тканевых структур при периимплантите можно рассматривать как пример резервных возможностей иммунной системы, сохраняющихся даже при прогрессировании воспаления при условии наличия эффекта механотрансдукции.

ВЫВОДЫ

1. В экспериментальных условиях разработаны модели периимплантного мукозита и периимплантита в области дентальных имплантатов верхней и нижней челюстей. На моделях патофизиологического эксперимента воспроизведен процесс хронического воспаления слизистой оболочки и пародонта, который подтвержден клинически и рентгенологически. Изучение морфологии периимплантной зоны позволяет объективно оценить показатели репарации тканей при жевательных нагрузках и в условиях их отсутствия.

2. Активизация процессов репарации в периимплантной зоне с эффективной регенерацией кости достигнута введением в периимплантную область остеопластического материала в сочетании с жевательными нагрузками. Ускорение процессов тканевого ремоделирования в периимплантной зоне (на 1-3 месяца раньше по сравнению с контрольной группой) связано с улучшением трофики за счет интенсификации аутогенного ангиогенеза при участии стволовых клеток гемопоэтического происхождения (CD 34⁺), а также накоплением в клетках белка виментина.

3. Ведущую роль в активации физиологического ремоделирующего гистиона кости челюсти играют функциональные нагрузки, приводящие к опережающему по скорости и объему темпу формирования молодой ретикулофиброзной (темп прироста +182,1% к концу 3 месяца) и пластинчатой (темп прироста +110,2% к концу 7 месяца) костной ткани вокруг дентального имплантата.

4. При периимплантном мукозите инфильтративные воспалительные изменения в строге десны характеризуются увеличением числа нейтрофильных гранулоцитов и снижением числа плазматических клеток по сравнению с контролем. При периимплантите, напротив, отмечается прирост агранулоцитов в инфильтрате, уменьшение числа зернистых лейкоцитов и плазмоцитов по сравнению с данными показателями при периимплантном мукозите. Это свидетельствует о разной активности воспаления и разных моделях клеточного взаимодействия при указанных моделируемых состояниях.

5. При прогрессировании воспаления в периимплантных тканях происходит изменение взаимосвязи между клетками стромы десны. Математический анализ установил: в норме связаны количество гистиоцитов и лимфоцитов, лимфоцитов и палочкоядерных нейтрофилов; при периимплантном мукозите данные связи не выражены, но сформирована прямая сильная взаимозависимость количества тучных клеток и лимфоцитов; при периимплантите происходит восстановление связи макрофаг-гистиоцит и лимфоцит, сохраняется сильное взаимное влияние лимфоцитов и тучных клеток и начинают формироваться новые обратные связи, когда увеличение содержания одних клеток связано с уменьшением содержания других (лимфоциты и плазмоциты, плазмоциты и тучные клетки, тучные клетки и эозинофилы).

6. В основе прогрессирования патологических процессов при воспалении в периимплантных тканях лежат взаимосвязанные изменения взаимодействия клеток стромы десны, отражающие нарушение кинетики воспалительной

иммунной реакции, изменения эндотелиального транспорта в сосудах микроциркуляторного русла и интенсивность аутогенного ангиогенеза, изменения активности клеток фибробластического дифферона. Их комплексное исследование морфологическими и молекулярными методами позволяет судить о степени активации физиологического ремоделирующего гистиона при периимплантном мукозите и периимплантите.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанные экспериментальные модели периимплантного мукозита и периимплантита рекомендуются в качестве пособия для отработки широкого спектра патофизиологических исследований репаративной регенерации при изучении саногенетических механизмов развития и исходов воспаления в области челюстных костей.
2. Рекомендуется более раннее применение циклических или постоянных функциональных нагрузок, способствующих структурным изменениям как при физиологическом, так и при посттравматическом ремоделировании костной ткани у пациентов с установленными дентальными имплантатами.
3. После ремоделирования челюстной кости с использованием костнозамещающих препаратов в условиях воспаления периимплантных тканей для наиболее эффективного стимулирования полноценного остеогенеза рекомендуется начинать функциональные нагрузки на дентальные имплантаты через 3-7 месяцев от момента проведения оперативного вмешательства в зависимости от его объема.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сирак А.Г. Морфофункциональная характеристика эндотелия при воспалительных процессах пародонта / А.Г.Сирак, Е.И.Пискарева, А.Н.Мащенко, А.П.Арутюнова, О.Г.Магомедова, Е.Г.Неменуцкая, **М.О.Диденко** // В сборнике: Инновационные технологии в медицине детского возраста Северо-Кавказского федерального округа. Материалы Северо-Кавказской научно-практической конференции с международным участием. – 2018. – С. 59-62.
2. Сирак С.В. Иммуногистохимическая оценка изменений в тканях пародонта у экспериментальных животных с остеопорозом костного скелета / С.В.Сирак, С.П.Рубникович, Е.В.Щетинин, М.Г.Перикова, Г.Г.Петросян, Н.И.Быкова, Т.Л.Кобылкина, **М.О.Диденко** / Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14. – № 4. – С. 681-685.
3. Сирак С.В. Влияние гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой, на регенерацию костной ткани альвеолярного отростка челюсти при экспериментальном периимплантите / С.В.Сирак, С.П.Рубникович, Л.А.Григорьянц, М.М.Гарунов, **М.О.Диденко**, З.М.Кочкарова., А.А.Андреев // Клиническая стоматология. – 2019. – № 4 (92). – С. 61-65.
4. Сирак А.Г. Роль нефагоцитирующих гранулоцитов периферической крови в клеточных реакциях при воспалении / А.Г.Сирак, Е.И. Пискарева, О.Г. Магомедова, А.П. Арутюнова, Е.Г. Неменуцкая, **М.О. Диденко**, З.М. Кочкарова, М.Г. Перикова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14. – № 1-2. – С. 238-242.
5. Sirak A.G. Leukocytic responses in peripheral blood and peculiarities of bone marrow hematopoiesis in acute and chronic inflammation on a background of

local removal of non-phagocytic granulocytes / A.G.Sirak, E.I.Piskareva, O.G.Magomedova, A.P.Arutjunova, M.A.Dolgashova, **M.O.Didenko**, N.S.Andriutsa, Z.M.Kochkarova / Medical News of North Caucasus. – 2019. – Т. 14. – № 3. – С. 512-516.

6. Сирак С.В. Способ создания экспериментальной модели остеопороза / Сирак С.В., Щетинин Е.В., Диденко Н.Н., Сирак А.Г., **Диденко М.О.** // Гены и Клетки. 2019. – Т. 14. – №5. – С. 213-214.

7. Сирак А.Г. Тучные клетки в экспериментальных условиях / А.Г.Сирак, Е.И.Пискарева, О.Г.Магомедова, **М.О.Диденко**, А.П.Арутюнова, Е.Г.Неменушая // Морфология. -2019. – Т. 155. – № 2. – С. 258-264.

8. Патент 2730970 Российская Федерация МПК7 G 09В 23/28 (2006.01). Способ создания экспериментальной модели периимплантата / Авторы: С.В.Сирак., Е.В.Щетинин, А.Г.Сирак, С.П.Рубникович, **М.О.Диденко**, М.Г.Перикова, З.М.Кочкарова, И.А.Гатило, А.А.Андреев, Е.С.Сирак; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Щетинин Е.В., Сирак А.Г., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2019137611 заявл. 21.11.2019; дата гос. регистрации в реестре полезных моделей РФ 26.08.2020; опубл. 26.08.2020; Бюл. № 24.

9. Сирак А.Г. Гемопоз и функциональное состояние лейкоцитов крови при воспалении на фоне локального удаления нефагоцитирующих гранулоцитов / А.Г.Сирак, Е.И.Пискарева, М.А.Долгашова, О.Г.Магомедова, А.П.Арутюнова, О.В.Любанская, Е.Г.Неменушая, **М.О.Диденко**, З.М.Кочкарова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2020. – № 2 (74). – С. 153-156.

10. Сирак С.В. Влияние нагрузки на процессы моделирования и ремоделирования костной ткани при экспериментальном периимплантите / С.В.Сирак, **М.О.Диденко**, А.Г.Сирак, Е.Е.Щетинина, Е.С.Сирак, А.В.Погожева, Г.Г.Петросян, В.Н.Ленев // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – Т. 15. – № 3. С. – 364-368.

11. Сирак С.В. Роль механотрансдукции в активации физиологического ремоделирующего гистона / С.В.Сирак, **М.О.Диденко**, А.Г.Сирак, Е.Е.Щетинина, Е.С.Сирак, Г.Г.Петросян, М.А.Журавель, Е.В.Щетинин // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16. – № 4. – С. 399-404.

12. Патент 2797130 Российская Федерация МПК51 G01N 33/48 (2006.01) G01N 1/28 (2006.01). Способ бескислотной декальцинации образца костной ткани перед гистохимическим исследованием / Авторы: С.В.Сирак., Е.С.Сирак, А.Г.Сирак, О.В.Дилекова, Е.В.Щетинин, А.С.Сирак, М.Г.Перикова, **М.О.Диденко**, А.П.Арутюнова; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Сирак Е.С., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2022108345 заявл. 28.03.2022; дата гос. регистрации в реестре полезных моделей РФ 31.05.2023; опубл. 31.05.2023; Бюл. № 16.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза;

ИГХ-реакция – иммуногистохимическая реакция;

ИРРК – интенсивность репаративной регенерации кости;

КФ – кислая фосфатаза;

ЛФ – лимфоциты;

МФ – макрофаги;

МЦР – микроциркуляторное русло;

НАД – никотинамидадениндинуклеотид;

НАДФ⁺ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат;

ПК – плазматические клетки;

ПМ – периимплантный мукозит;

П/Я – палочкоядерные лейкоциты;

ТК – тучные клетки;

ЩФ – щелочная фосфатаза;

ЭФ – эозинофилы;

CD 34⁺ – маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток;

Ki-67 – маркер пролиферирующих клеток на стадии интерфазы.