

*На правах рукописи*

**Ян Бовэнь**

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ  
В ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ ТКАНЯХ ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ  
РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

14.01.14 - Стоматология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

**Чикунев Сергей Олегович**

**Официальные оппоненты:**

**Маркин Владимир Александрович** – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, стоматологический факультет, кафедра ортопедической стоматологии и гнатологии, профессор кафедры

**Степанов Александр Геннадьевич** – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Медицинский институт, факультет непрерывного медицинского образования, кафедра стоматологии, профессор кафедры

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

Защита состоится «17» июня 2021 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.07 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский б-р, 37/1 и на сайте организации [www.sechenov.ru](http://www.sechenov.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент



**Дикопова Наталья Жоржевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

В настоящее время в практическую деятельность врача-ортопеда и челюстно-лицевого хирурга внедряется большое количество новых технологий, современных материалов, инженерных конструкций и клеточных технологий, позволяющих все более успешно решать поставленные задачи (Бакерникова Т.М.,2008; Druet Ph.,2003). Задача специалистов сводится, прежде всего, к созданию алгоритма использования достижений современной науки (Алексеева О.А.,2009; Орешкин И.В.,2003; Lohmueller K.E., et al., 2003). В то же время медико-социальные факторы жизни населения вносят определенные коррективы в планирование лечения и прогнозирование его результатов (Борисова Е.Н.,2001;Бородина Н.Б. и соавт.,2002; Гашуров А.В.,2002; Deas D.E.,2005; Endoh K., Leung F.W.,2004).

Так, последнее десятилетие характеризуется прогрессивным увеличением продолжительности жизни с появлением значительного контингента людей, требующих стоматологического лечения в силу физиологической или патологической утраты зубов. При этом повышаются требования к качеству стоматологического лечения, во многом определяющего качество жизни пациентов (Чикунев С.О.,2015).

С другой стороны, с увеличением возраста пациентов происходит накопление не только стоматологических проблем, но и соматических заболеваний, относящихся к разряду системных патологий, затрагивающих организм как целое, влияя на обмен веществ, гормональный статус, микробные ассоциации и др. (Молодкина О.А.,2005; Никитин В.Н.,2001; Мацюпа Д.В. и соавт.,2004; Орехова Л.Ю. и соавт.,2004; Liakony et al., 2003; Kopansky Z. et al.,2002) Большая часть системных заболеваний имеет центральное звено, выполняющее роль причинного фактора в формировании осложнений и приводящее к снижению эффективности лечебных манипуляций(Макpherson A.J.,2006; Straka M.,2001) .

К подобным синдромам относится гипергликемия, являющаяся проявлением ряда острых и хронических заболеваний, таких как острое нарушение мозгового кровообращения, сахарный диабет, ожирение, метаболический синдром (Барер Г.М.,2008; Беляков Н.А.,2008; Дедов И.И.,2012). Данные ВОЗ позволяют прогнозировать значительное увеличение распространенности данной патологии в ближайшее

время(Бородина О.В., 2004). Это, в свою очередь, увеличивает число пациентов, нуждающихся в стоматологическом лечении, в то числе в имплантации.

В своей практической работе врачу-стоматологу желательно знать те морфологические изменения в органах полости рта, которые развиваются при гипергликемии различной этиологии, что создаст основу для выбора алгоритма лечения.

В литературе существует много данных, посвященных состоянию тканей пародонта при различных заболеваниях и многочисленных технологиях стоматологического лечения (Борисенко Л.Г.,2007; Богомолов М.В.,2009, Арутюнов С.Д., Степанов А.Г. 2019). Однако, большинство из них носит описательный характер в них отсутствуют объективные показатели, по которым можно оценивать скорость и полноту регенераторных процессов, происходящих в мягкой и твердых тканях ротовой полости после хирургической травмы. В связи с этим возникает необходимость проведения фундаментальных междисциплинарных исследований и изучить результаты не только конечного этапа лечения, но и показатели качественных и количественных параметров в динамике регенераторных процессов как повреждения, так и восстановления покровных тканей, тканей пародонта и кости, выполняющих роль физиологического барьера, элементов, влияющих на интеграцию имплантата (Маркин В.А., Степанов А.Г. 2018).

Прогнозирование интеграции дентальных имплантатов у пациентов с сопутствующей гипергликемии различной этиологии необычайно актуальная проблема современной стоматологии, что и определило цель данного диссертационного исследования.

### **Цель исследования.**

Прогнозирование интеграции дентальных имплантатов у пациентов с сопутствующей гипергликемии различной этиологии по результатам динамического наблюдения за морфологическими изменениями в периимплантатных тканях при экспериментальной гипергликемии.

### **Задачи исследования.**

1. Описать динамику и стадийность структурных изменений, а также клеточно-тканевые соотношения в периимплантатных тканях при экспериментальной гипергликемии.

2. Установить зависимость характера и выраженности структурных изменений в периимплантатных тканях от течения сахарного диабета при различных экспериментальных моделях гипергликемии.

3. Определить влияние возраста животных на регенераторные возможности периимплантатных тканей.

4. Определить патогенетические обоснованные противопоказания к имплантации при обоснованном неблагоприятном прогнозе отторжения имплантата.

5. Провести ретроспективный анализ историй болезни пациентов с сахарным диабетом типа 2, стоматологическая реабилитация которых проводилась с применением дентальных имплантатов, и сопоставить полученные данные с результатами эксперимента.

### **Научная новизна.**

Впервые проведена комплексная морфометрическая и физиологическая оценка процессов репаративной регенерации покровного эпителия, круговой связки зуба и костной ткани.

Автором определены количественные клеточно-тканевые соотношения в покровном эпителии и костной ткани в динамическом процессе восстановления после операционной травмы

Показан высокая прямая зависимость развития осложнений имплантации от выраженности гипергликемии у экспериментальных животных.

Описаны причины неэффективной имплантации у старых животных с умеренной гипергликемией.

Данные экспериментального исследования соотнесены с результатами ретроспективного анализа историй болезни пациентов с сахарным диабетом типа 2, стоматологическая реабилитация которых проводилась с применением дентальных имплантатов.

### **Теоретическая и практическая значимость.**

Предложены оценки динамического состояния тканей ротовой полости и клеточно-тканевых соотношений в ходе регенераторного процесса после хирургической травмы в

экспериментальных исследованиях по изучению действия различных патологических и стимулирующих факторов.

Выявленные закономерности регенерации твердых и мягких тканей позволяют обосновать отказ от проведения имплантации у пациентов, страдающих заболеваниями, сопровождающимися гипергликемией, и предложить альтернативные методы лечения.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.14 стоматология [1,2,3,4].

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

1. Качественные и количественные показатели регенеративного процесса в периимплантатных тканях определяются уровнем и длительностью гипергликемии, как определяющим фактором неэффективной имплантации.

2. Пожилой возраст и наличие компенсированной формы гипергликемии в послеоперационном периоде, являются основополагающими в выборе ортопедической стоматологической реабилитации, пациентов с сахарным диабетом типа 2.

### **Степень достоверности и апробация работы.**

Достоверность результатов обеспечивается последовательным и логичным изложением задач исследования, их решением, использованием современных апробированных методов исследования, корректностью применения, достаточным объемом данных для каждой исследовательской группы, достаточным количеством групп сравнения в экспериментах, адекватным применением методов статистического анализа, критической оценкой полученных результатов при сравнении с данными современной научной литературы.

Материалы и результаты диссертации доложены на XI Международной научно-практической конференции «Стоматология славянских государств» посвящённой 70-летию профессора А.В. Цимбалистова (Белгород, 2018); Научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии»; посвящённой 90-летию юбилею проф. В.Н. Копейкина (МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 2019); Научной конференции с Международным участием, посвящённой 170-летию кафедры патологической анатомии им. Академика А.И. Струкова (ПМГМУ им И.М. Сеченова;

Москва, 2019); Всероссийской научной конференции с Международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (ФГБНУ; Москва, 2020).

### **Внедрение результатов исследования.**

Основные результаты работы включены в учебную программу кафедры ортопедической стоматологии Института стоматологии имени. Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), и стоматологическую клинику Арт Ораль, а также в учебный процесс указанной кафедры.

### **Личное участие автора.**

Автор лично планировал и проводил экспериментальные исследования, готовил гистологические препараты и описывал морфологическую картину, анализировал, систематизировал и статистически обрабатывал полученные данные.

Автор лично проводил анализа историй болезни пациентов с сахарным диабетом типа 2, стоматологическая реабилитация которых проводилась с применением дентальных имплантатов, анализировал, систематизировал и статистически обрабатывал полученные данные, сопоставлял их с данными эксперимента.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 8 работ, из них 4 в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ, одна статья в журнале, входящем в международную базу Scopus.

### **Объем и структура диссертации.**

Диссертационная работа содержит «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «2 Главы результатов собственных исследований», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации» и «Список литературы». Диссертация изложена на 85 страницах, проиллюстрирована 26 рисунками и 8 таблицами. Список литературы включает 185 источника, в том числе 76 отечественных авторов и 109 иностранных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научное исследование выполнено на 65 белых беспородных половозрелых крысах-самках массой 270-350г возрастом 10-11 месяцев. Животные содержались в виварии в клетках по 10 особей при естественном освещении на натуральном корме при температуре помещения 21°C. Условия содержания животных были организованы в соответствии с рекомендациями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.)

Было использовано две описанные в литературе стандартные модели длительного повышения концентрации глюкозы в крови.

Сущность первой модель гипергликемии состоит в том, что формируется длительно существующее мягкое повышение концентрации глюкозы в крови путем введения стрептозотоцина в дозе 50мг/кг веса внутривентриально однократно в 2,0 мл физиологического раствора. Согласно описанию данной модели, через месяц после введения у животных происходит увеличение тощакового сахара - с  $3,9 \pm 0,3$  ммоль/л до  $9,6 \pm 2,2$  ммоль/л без выраженного повреждающего действия препарата на поджелудочную железу (Мазо В.К. с соавт., 2015). Предполагается, что животные этой группы (группа № 1- 20 животных и группа № 3 - 10 животных) могут жить долго без грубых нарушений функционирования органов, что позволяет считать данную модель наиболее близкой к гипергликемии, развивающейся у людей с метаболическим синдромом, ожирением, острым нарушением мозгового кровообращения, хроническим панкреатитом, а также с медленно прогрессирующим сахарным диабетом.

Животным второй группы (группа 2 – 20 животных) моделировали быстро прогрессирующую гипергликемию путем медикаментозного токсического действия на поджелудочную железу. Для этого вводили раствор аллоксана однократно в вену хвоста в дозе 30мг /кг веса животного.

Согласно протоколу проведения данной методики, через 12-15 дней у животных происходит 10-кратное стойкое снижение концентрации инсулина крови (Николаева М.Я., 1986). Данная модель соответствует картине быстро прогрессирующего сахарного

диабета у пациентов, а также быстрому и необратимому повышению глюкозы крови при острой алкогольной интоксикации, панкреонекрозе или циррозе поджелудочной железы.

Животным первой группы через 30 суток после введения стрептозотоцина и животным второй группы через 20 дней после введения аллоксана проводили экстирпацию одного верхнего резца. Операцию проводили под наркозом по методике, описанной Р.А. Гиммельфарбом для проведения операций на животных малого веса - премедикация атропин из расчета 0,04 мг/кг подкожно; основной наркоз - гексенал 2% на физрастворе внутривенно 45мг/кг.

Затем проводили одномоментную внутрикостную имплантацию в лунку зуба титановой пластинки, аналога дентального имплантата, размерами 5x2x1мм. Аналог дентального имплантата с заданными параметрами изготавливали методом компьютерного моделирования и фрезерования на аппарате М-5 системы ZirkonZahn (Италия) из титанового сплава марки 5 95Н10, также фирмы ZirkonZahn (Италия), содержащего в своей композиционной структуре 90% титана, 6% алюминия, 3 % ванадия, менее одного процента железа и менее одного процента кислорода. После фрезерования пластины подвергали пескоструйной обработке порошком оксида зерна размера 100 мкм, с последующей стерилизацией методом автоклавирования.

Животные второй группы (10 крыс) содержались в виварии в тех же условиях в течение года до достижения 23-24-х месяцев жизни. Поскольку продолжительность жизни белых беспородных крыс составляет 2 года, данная группа животных выполняла роль модели длительно существующей гипергликемии у особей старшего возраста. За животными проводили наблюдения, описывали поведенческие и физиологические изменения, которые характеризуют процесс старения животных. По истечении данного срока животным проводили экстирпацию зуба и имплантацию металлической пластинки по описанной выше методике.

Контрольную группу составили 15 животных (группа №4).

Животных выводили из эксперимента на 7, 14, и 30 сутки после имплантации путем передозировки эфирного наркоза.

Отделяемую жидкость из области раны помещали на предметное стекло, фиксировала над пламенем горелки и в 70\* этиловом спирте. Окрашивали по методу Романовского и исследовали с помощью светового микроскопа. Подсчет клеток производился в 50

произвольно взятых полях зрения при увеличении микроскопа 2000 (ок 20х, об 100х, масляная иммерсия).

Фрагменты слизистой оболочки десны вокруг имплантата, круговой связки зуба и костной ткани экспериментальных животных вблизи и дистанционно от имплантата фиксировали в 10% формалине при температуре 37°C в течении 24 часов с последующим обезвоживанием в спиртах восходящей концентрации, начиная с 70° и до абсолютного с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 5 мкм, изготовленные с использованием ротационного микротомы Leica RH-125, окрашивали с применением обзорных окрасок и просматривали в световой микроскоп BioBlue (Голландия) с описанием увиденных изменений.

Для объективизации описательной картины проводили подсчет площадей зон некроза, воспаления и кровоизлияний в зоне операции в ранние сроки эксперимента, а затем соотношение тканевых элементов и относительные показатели долей структурных элементов – покровного эпителия, круговой связки зуба и костного матрикса. Проводили оценку площадей как предсуществующих структурных элементов, так и вновь образованных тканей.

Для иммуногистохимического исследования использовался метод, основанный на стрептавидин-биотиновой технологии, с применением поликлоновых кроличьих сывороток, содержащих антитела к антигену S-100, виментину и цитокератину С-3. В качестве красящей метки используется хромоген-диаминобензидин. Учет экспрессии в клетках мембранных маркеров проводилась полуколичественным методом: отсутствие — 0, слабая — + (1+), умеренно выраженная — ++ (2+), интенсивная — +++ (3+).

Соотнести данные, полученные в эксперименте на экспериментальных животных с клинической практикой, не всегда представляется возможным. Например, воспалительная реакция в мягких тканях у животных чаще всего протекает редуцированно; с этим, в частности, связаны трудности моделирования острых воспалительных реакций в тканях экспериментальных животных, в том числе и в тканях ротовой полости.

Однако, существующие экспериментальные модели различных патологических процессов позволяют в ряде случаев не только описать динамику структурных перестроек в тканях и органах, но и прогнозировать возможные осложнения и выяснить причину их

возникновения, что невозможно сделать в клинической практике по этическим соображениям.

Для сопоставления результатов, полученных по итогам экспериментального исследования нами, был проведен ретроспективный анализ историй болезни пациентов с сахарным диабетом типа 2, стоматологическая реабилитация которых проводилась с применением дентальных имплантатов.

Изучались истории болезни 144 пациентов стоматологических поликлиник города Москвы различных форм собственности в возрасте от 35 до 65 лет обоих полов. Обязательными критериями являлось наличие дентальных имплантатов и установленного врачом-эндокринологом сопутствующего диагноза сахарный диабет типа 2 подтвержденного выпиской из истории болезни с фиксированным мониторингом суточного сахара.

Истории болезней пациентов были распределены на 2 возрастные группы. Первую группу составили пациенты в возрасте от 35 до 54 лет, а вторую, от 55 до 65.

При анализе историй болезни учитывались: жалобы, развитие настоящего заболевания, стоматологический статус, общесоматический статус, тип дентальной имплантации, сроки и характер осложнений дентальной имплантации, показатели глюкозы крови на до, и послеоперационных периодах.

Полученные цифровые данные обрабатывали с использованием пакета SigntaStat 3.0. и прикладных программ – Statistica 6,0. Для попарных межгрупповых различий метод Манна – Уитни. Различия между группами считали достоверными  $t > 2$  и при  $p \leq 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Проведенное цитологическое исследование мазков-отпечатков из области операции через сутки после имплантации выявило типичные изменения, характерные для острой травмы. Так, в мазках –отпечатках как у контрольных, так и у опытных животных клеточный состав характеризовался наличием клеток слущенного эпителия, большого количества эритроцитов и нейтрофилов. К третьим суткам опыта у контрольных животных число эритроцитов снижалось, равно как и количество эпителиальных клеток покровного эпителия. В опытных группах мы наблюдали достоверное снижение процентного соотношения нейтрофильных лейкоцитов и лимфоидных элементов и

увеличение доли некротизированных фрагментов, площади зон кровоизлияний и комплексов слущенного многослойного плоского эпителия, что свидетельствует о более глубокой альтерации по сравнению с животными контрольной группы и снижении защитной реакции у опытных животных, особенно выраженной в группе с агрессивной формой гипергликемии.

Эти различия еще более усугубились на 7-е сутки послеоперационного периода, когда у животных контрольной группы в мазках-отпечатках доминировали клетки лимфоидного ряда, которые формировали демаркационную линию, что свидетельствует о полноценном регенерационном процессе, снижении гемодинамических нарушений в мягких тканях, окружающих имплантат. При этом у животных обеих опытных групп доминировали признаки альтерации и расстройства кровообращения, особенно выраженные на модели с аллоксановым вариантом гипергликемии, когда наблюдался тотальный некроз мягких тканей периодонта. В опытных группах в перимплантных зонах сохраняются резко выраженные сосудистые нарушения в виде паретического расширения кровеносных сосудов, стаза, сладжей эритроцитов и массивных кровоизлияний, тогда как в контроле полнокровие тканей можно оценить, как умеренное, что сопровождается снижением эритродиапедеза и уменьшением площади экстравазатов. Изменения в строении покровного эпителия характеризуются сохранением отека, набухания, сохранением разобщенности эпителиальных клеток, слущиванием эпителия, что особенно выражено в опытных группах.

В последующие сроки послеоперационного периода происходили стадийные регенерационные изменения в виде постепенного восстановления структуры покровного эпителия. Однако вновь образованный покровный эпителий отличался по структуре от контрольного. Изучение строения слизистой оболочки в послеоперационном периоде показало, что вновь образованный эпителий отличается от контроля достоверным снижением толщины к 30-м суткам эксперимента у животных как со стрептозотоциновой, так и аллоксановой моделью гипергликемии ( $24,6 \pm 8,8 \text{ мкм}$  и  $13,0 \pm 1,7 \text{ мкм}$  соответственно; в контроле  $36,2 \pm 0,4 \text{ мкм}$ ,  $p \leq 0,001$ ). что сопровождалось изменением архитектоники самого эпителиального пласта, проявляющимся в нарушении стратификации, появлением кистозных полостей, нарушением межклеточных контактов, формированием акантолических погружений, что более выражено у животных с быстро прогрессирующей

гипергликемией. При этом у части животных с аллоксановой токсемией к 60-м суткам опыта формировались глубокие эрозии и язвенные поражения вокруг имплантата.

Эрозии в полости рта выполняют роль «входных ворот» для инфекции, что поддерживает воспалительный процесс и замедляет регенераторные процессы в эпителии.

Исследование клеточных популяций в мазках-отпечатках в динамике показано на следующих графиках (Рисунок 1,2,3).

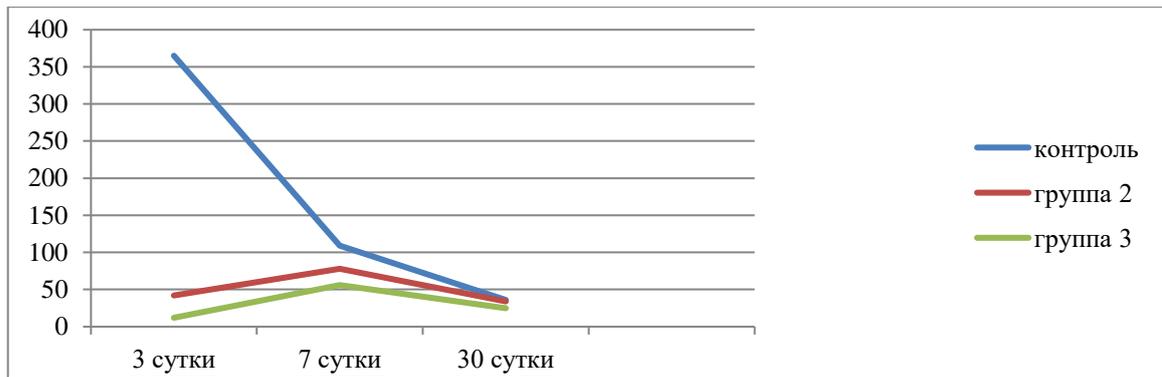


Рисунок 1. Динамика изменения количества нейтрофильных лейкоцитов в мазках-отпечатках (50 полей зрения)

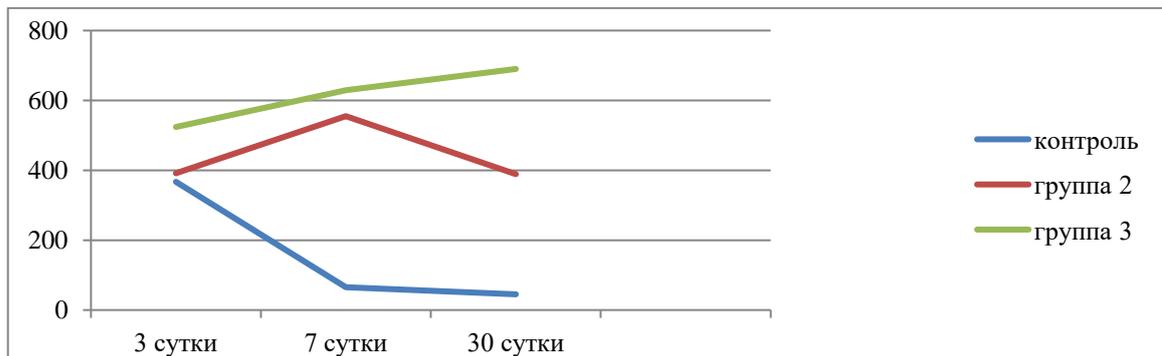


Рисунок 2. Динамика изменения количества слущенных клеток покровного эпителия в мазках-отпечатках (50 полей зрения)

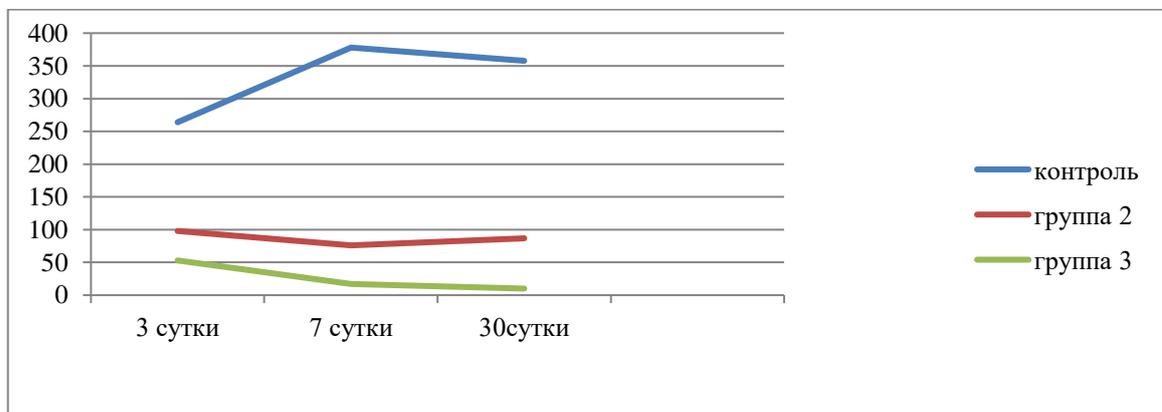


Рисунок 3. Динамика изменения количества лимфоцитов в мазках-отпечатках (50 полей зрения)

Представленные графики изменений клеточного состава в мазках-отпечатках свидетельствуют о том, что в контроле в течение первого месяца происходят посттравматическая регенерация покровного эпителия, которая заключается в смене воспалительных фаз-первые трое суток характеризуются развитием экссудативной фазы воспаления, а в последующие сроки развивается его продуктивная фаза, которая является основой регенерации. К концу первого месяца опыта в мазках-отпечатках доминируют лимфоидные элементы, которые всегда присутствуют в покровном эпителии, как в барьерной ткани в виде межэпителиальных лимфоцитов. Покровный эпителий после операционной травмы с течением времени восстанавливается, уплотняется, формируются межэпителиальные связи, предотвращающие смещение клеток. В опытных группах доминируют процессы альтерации в виде некроза, в результате чего эпителиальный пласт регенерирует не столь активно или совсем не восстанавливается, о чем свидетельствует увеличение числа эпителиальных клеток в мазках. Этот процесс происходит на фоне отсутствия типической клеточной реакции при воспалении - положительного хемотаксиса нейтрофильных лейкоцитов в зону разрушения. Кроме того, не происходит смены тканевых реакций с экссудативной фазы на пролиферативную, что отражает снижение активности восстановления покровных тканей после операционной травмы, что особенно выражено в группе с моделью аллоксановой гипергликемии.

Подтверждением низкой регенераторной активности клеток эпителия в опытных группах явились результаты иммуногистохимического исследования активности пролиферации эпителиальных клеток с использованием антитела Ki-67.

Полученные данные представленной таблицы подтверждают положительную динамику восстановления клеток путем размножения сохранившихся клеток эпителия в границах операционной травмы. При этом к концу первого месяца опыта процесс регенерации завершается, о чем свидетельствует снижение коэффициента пролиферативной активности практически до нормальных цифр. В опытных группах пролиферативная активность сохранившихся эпителиальных клеток снижена и остается на низких показателях в течение всего первого месяца эксперимента. В группе 3 (модель агрессивно протекающей гипергликемии) коэффициент регенерации снижен в 3 раза в сравнении с контрольной группой.

Восстановление строения подслизистого слоя и круговой связки зуба также отличалось как по срокам восстановления, так и по качеству вновь образованной соединительной ткани.

Так, в опыте со стрептозотоциновой гипергликемией восстановление коллагеновых волокон происходило на базе круговой связки зуба и сопровождалось появлением регулярно расположенных коллагеновых волокон с фокусами гиалиноза и единичных структур эмбрионального типа. При этом круговая связка зуба отличалась истончением и разволокнением составляющих ее коллагеновых волокон, тогда как у животных второй группы вокруг имплантата формировалась грубая соединительная ткань с разнонаправленными коллагеновыми волокнами, с множественными полями гиалиновых изменений и высокой долей эмбриональных волокон, не обладающих достаточными прочностными характеристиками.

Изучение характера кровоснабжения тканей, окружающих имплантат, показало достоверное снижение площади кровеносного русла у животных с аллоксановой моделью гипергликемии, которое к 60-м суткам было втрое ниже, чем в контроле. Таким образом, аллоксановая интоксикация проводила к тотальному разрушению тканей периодонта, включая структуры микроциркуляторного русла, и вновь образованная соединительная ткань формировалась на месте тотального некроза на фоне тяжелой гипоксии, что привело к нарушениям характера регенераторных процессов, заключающимся в формировании в послеоперационном периоде тканей, не обладающих достаточными прочностными характеристиками и препятствующих формированию полноценной интеграции имплантата, что не противоречит результатам, полученным другими исследователями.

Динамика структурных изменений в кости после имплантации не столь активная, как в эпителии или круговой связке зуба в силу особенностей физиологической регенерации костной ткани. В силу этого на 3-и, 5-е и 7-е сутки эксперимента у животных опытных и контрольных групп доминирует процесс альтерации кости в виде многочисленных разобщенных костных фрагментов. Лишь через 2 недели в контрольных группах животных начинаются процессы организации в виде замещения зон некроза фиброзной тканью на фоне рассасывания некротизированных фрагментов предсуществующей кости. Эти процессы начинаются в отдалении от зоны имплантации, тогда как рядом с имплантатом все еще остаются костные обломки.

К концу первого месяца после имплантации у животных контрольной группы происходят процессы дифференцировки фиброзной ткани в костную на первых этапах в незрелую кость с последующим ее созреванием и формированием остеонов.

В опытных группах к 30-м суткам опыта имеются лишь единичные фокусы рассасывания костных обломков, а начальные фокусы разрастания фиброзной ткани были обнаружены вдали зоны имплантации только у 2х животных из пяти в группе с медленно прогрессирующей гипергликемией. В тканях под эпителием у животных с агрессивной гипергликемией продолжали доминировать некротические изменения. Более активные процессы костеобразования в группе со стрептозотоциновой гипергликемией наблюдались лишь к 60-м суткам опыта. Особенностью вновь образующейся кости явилось отсутствие типичного строения костных балок (рисунок 4,5,6).

У животных с агрессивной формой гипергликемии в зоне имплантации процессы регенерации костной ткани практически отсутствуют.



Рисунок 4. Тканевые соотношения в периимплантантной зоне контрольной группы животных в послеоперационном периоде

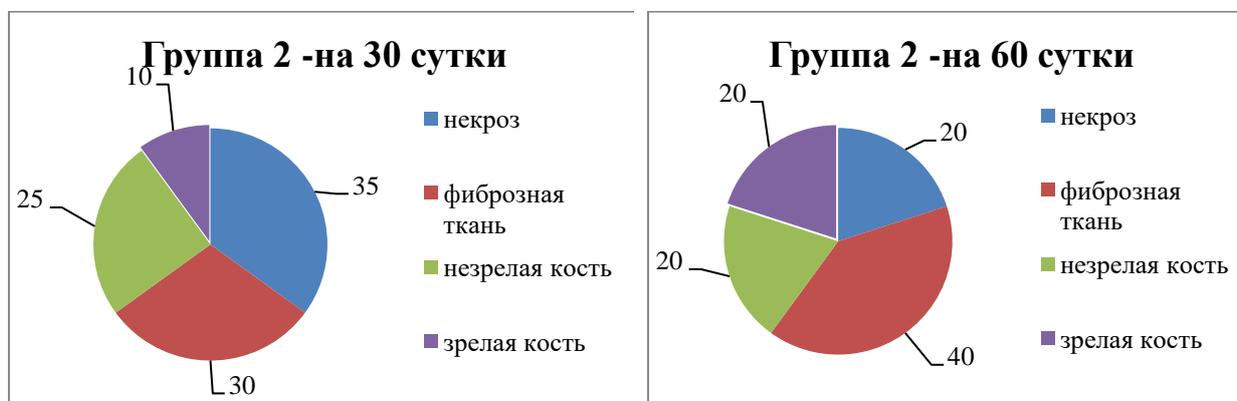


Рисунок 5. Диаграммы тканевые соотношения в зоне имплантации в группе животных со стрептозотоциновой моделью гипергликемии

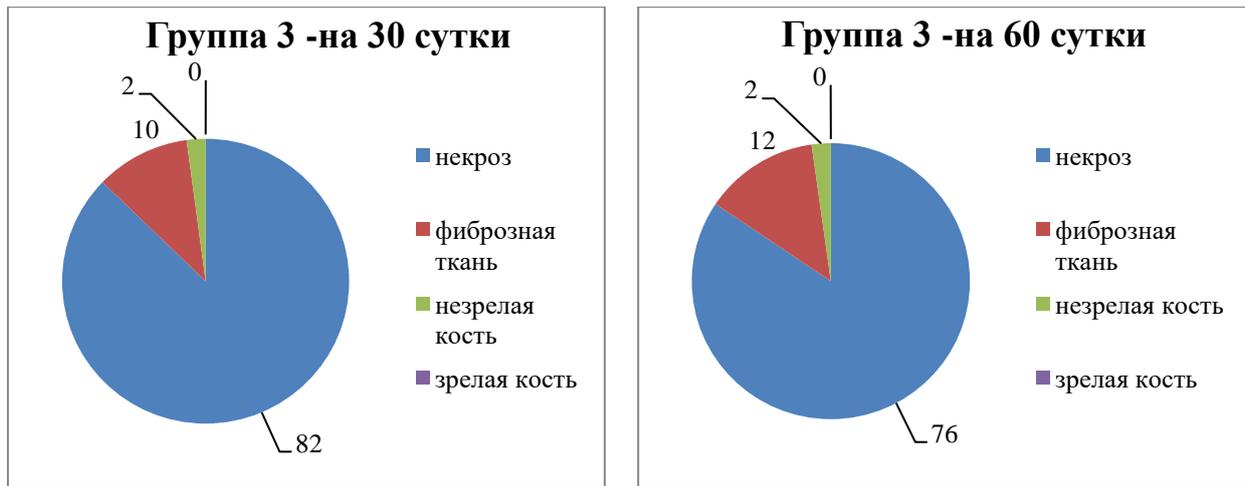


Рисунок 6. Диаграммы тканевые соотношения в зоне имплантации в группе животных с аллоксановой моделью гипергликемии

Эти изменения привели к тому, что у части животных с аллоксановой гипергликемией к 30-м суткам имплантат выпадал самостоятельно, а у оставшихся-через два месяца он без усилий мог быть удален. Патологическая подвижность имплантата наблюдалась и в группе животных со стрептозотоциновым диабетом, тогда как в контрольной группе лишь у двух животных выявлялась незначительная подвижность имплантата.

Динамическое исследование регенераторных особенностей тканей, окружающих имплантат, у животных с различными моделями гипергликемии показало, что при декомпенсированной форме гипергликемии полноценного восстановления структуры тканей пародонта не происходит, на основании чего можно сделать заключение, что у пациентов со стабильно высокими показателями глюкозы крови необходимо отказаться от использования погружных имплантатов при восстановлении утраченных зубов в силу тяжелых осложнений в послеоперационном периоде, лежащих в основе неэффективности имплантации.

Для сопоставления данных полученных в ходе экспериментальных исследований с клинической картиной дентальной имплантации у больных сахарным диабетом типа 2, был проведен ретроспективный анализ историй болезни пациентов стоматологических поликлиник, параллельно наблюдающихся у эндокринолога.

Всего было изучено 144 стоматологические и общеклинические истории болезней пациентов. Первую группу составили 86 пациента в возрасте от 35 до 54, вторую 58 человек от 55 до 65 лет. Распределение пациентов по полу, возрасту, стоматологическому,

общеклиническому диагнозам и типу дентальной имплантации представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов по возрасту и нозологии

Группа/ возраст	Пол/кол- во	Тип и кол-во имплантатов	Соматический диагноз (в %)	Стоматологический диагноз (%)
1 / 35-54 лет	М / 34	Двухэтапная (58) Одноэтапная (14)	Сахарный диабет тип 2 (100); Артериальная гипертензия (14±2,8).	Хр.пародонтит (29±0,5) Мукозит (89±2,4) Периимплантит (11±0,5)
	Ж / 52	Двухэтапная (64) Одноэтапная (8)	Сахарный диабет тип 2 (100); Гипотиреоз (11±1,4) Артериальная гипертензия (31±3,6).	Хр.пародонтит (34±2,7) Мукозит (78±0,5) Периимплантит (22±0,1)
2 / 55 – 65 лет	М / 22	Двухэтапная (49) Одноэтапная (4)	Сахарный диабет тип 2 (100); Артериальная гипертензия (86±1,4).	Хр.пародонтит (69±1,7) Мукозит (54±5,5) Периимплантит (46±1,5)
	Ж / 36	Двухэтапная (57) Одноэтапная (2)	Сахарный диабет тип 2 (100); Гипотиреоз (36±0,5) Артериальная гипертензия (78±1,5).	Хр.пародонтит (84±1,2) Мукозит (14±2,7) Периимплантит (86±1,4)

Анализируя полученные данные видно, что среди типов операции значительно преобладала двухэтапная отсроченная имплантация. Помимо основного заболевания сахарный диабет тип 2, во второй группе преобладают такие сопутствующие патологии как, артериальная гипертензия (в 3,6 раза) и гипотиреоз (в 3,3 раза), что, несомненно, так же могло повлиять на регенеративный остеогенез в послеоперационном периоде.

Изучая стоматологический статус можно сделать заключения, что у пациентов более возрастной группы процент хронического пародонтита в среднем составляет  $76,5 \pm 1,5\%$ , мукозита –  $34 \pm 1,3\%$ , периимплантита –  $66 \pm 1,5\%$ , тогда как в первой группе  $31,5 \pm 1,6\%$ ,  $83,5 \pm 1,5\%$  и  $16,5 \pm 0,3\%$ , соответственно. Таким образом, видно, что у пациентов первой группы стоматологический диагноз – мукозит в 2,5 раза преобладает, чем у пациентов второй группы, тогда как, диагнозы – хронический пародонтит и периимплантит преобладают у пациентов второй группы в 2,4 и 4 раза соответственно. Далее был проведен анализ мониторинга уровня глюкозы в крови пациентов на сроках послеоперационного периода и сопоставлен с неудачами имплантационного лечения. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты мониторинга уровня глюкозы в крови пациентов на сроках стоматологического лечения

Группа/ возраст	Кол-во протезированных / не интегрированных имплантатов	Средние значения глюкозы крови (ммоль/л)		
		до имплантации	во время осложнения	на период протезирован ия
1 / 35-54 лет	95	$4,8 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,3$	$5,0 \pm 2,1$
	49	$5,2 \pm 1,6^*$	$8,4 \pm 0,7^*$	-
2 / 55 – 65 лет	25	$4,6 \pm 0,6$	$5,1 \pm 1,8$	$5,4 \pm 1,5$
	87	$6,5 \pm 0,2^*$	$12,7 \pm 2,8^*$	-

\*-  $p \leq 0,005$

При анализе полученных данных, прослеживается прямая зависимость неудачи дентальной имплантации как от повышения значений уровня глюкозы в крови в послеоперационном периоде, так и от возраста пациентов. Из 114 имплантатов, установленных пациентам в возрасте от 35 до 54 лет, интегрировались и были протезированы 95, что составляет 66%, тогда как, у пациентов в возрасте от 55 до 65 лет, из 112 имплантатов алогичная результативность встречалась лишь у 25 имплантатов, что составляет 22%. При этом в случае удачной имплантации значения показателей глюкозы крови у пациентов обеих групп на всем этапе лечения увеличивались не более чем на  $0,8$  ммоль/л и находились в рефератных значениях нормы, т.е. до  $6,0$  ммоль/л. Тогда как, у

пациентов с не интегрированными имплантатами максимальное значение глюкозы достигало 12,7 ммоль/л, что соответствует декомпенсации сахарного диабета.

Таким образом, данные полученные при ретроспективном анализе историй болезни пациентов имеющих сопутствующую патологию эндокринной системы, соответствуют данным литературы и эксперимента подтверждающих, что при повышении значений уровня глюкозы в крови у лиц пожилого возраста протезирование зубов с опорой на дентальные имплантаты в 60-70 % случаях не результативно, и требует применение альтернативных способов ортопедической реабилитации.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИМПЛАНТАЦИИ У СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ**

Для установления влияния возрастных изменений тканей пародонта на внутрикостный имплантат нами было предпринято наблюдение за тканями периодонта у возрастных животных. Десяти самцам белых крыс возрастом 8-10 месяцев после моделирования стрептозотоциновой гипергликемии были удалены верхние резцы (по одному с каждой стороны) и проведена одномоментная имплантация титановой пластинки размерами 5,0x0,5x0,2мм. Исследование тканей периодонта проводилось у животных, когда они достигли возраста 22-24 месяца.

К этому периоду времени животные проявляли все признаки физиологического старения – снижение активности, понижение аппетита, снижение массы тела, ухудшение качества волосяного покрова, проявление вестибулярных расстройств и вирусных инфекций. Анализ крови на содержание глюкозы выявил умеренную гипергликемию.

Визуальный осмотр области имплантата показал, что у трех животных имплантат отсутствовал, слизистая оболочка выглядела гладкой тонкой сероватого цвета, с участком пролапса в области имплантации. У остальных животных имплантатов присутствовали, мягкие ткани вокруг имплантата пролоббировали, обнажая его на половину длины. Кроме того, имплантаты проявляли повышенную подвижность и, прикладывая незначительное усилие, были удалены без применения хирургического инструмента.

Гистологическое исследование слизистой оболочки выявило резкую атрофию покровного эпителия, снижение числа его рядов, уплощение клеток, наличие фокусов нежного ороговения (простая лейкоплакия). Все эти изменения характерны как для возрастных особей, так и встречаются у пациентов на слизистых оболочках разной

локализации при сахарном диабете (авторы). Кроме того, определялись зоны некроза покровного эпителия и хронические эрозии.

Средняя толщина покровного эпителия была достоверно ниже. Чем у молодых животных и составляла  $15,9 \pm 2,3$  мкм ( $p \leq 0,001$ ). Наряду с атрофией встречались участки пролиферации клеток базального слоя с формированием погружений различной глубины, что также встречается у пожилых пациентов, являясь в ряде случаев предраковыми изменениями.

При исследовании структуры подслизистого слоя обращало на себя внимание уменьшение числа кровеносных сосудов и изменение их стенки, что проявлялось в резком ее утолщении за счет разрастания соединительной ткани. При этом просвет сосудов суживался вплоть до облитерации. Площадь кровеносного русла при изучении 50 полей зрения при увеличении микроскопа 300x составляла  $378,2 \pm 29,4$ , что было достоверно ниже ( $p = 0,0083$ ). Чем у молодых животных с той же моделью гипергликемии.

Исследование морфологических особенностей круговой связки зуба также выявил существенные изменения структуры коллагеновых волокон. Так, в толще связки выявлялись многочисленные фокусы гиалиноза, что также является проявлением дистрофических изменений. Подобные изменения были описаны и другими авторами у пациентов при сахарном диабете.

Изменения микроструктуры костной ткани проявлялись процессами активной резорбции кости, остеопорозом, снижением процессов костеобразования на месте разрушенной в ходе имплантации кости, наличием множественных костных фрагментов, свободно лежащих в периимплантной зоне.

Подтверждением полученных гистологических изменений послужили данные морфометрического анализа площадей тканевых элементов в области имплантата. Исследование тканевых соотношений в перимплантной зоне в области, прилежащей к нижней трети имплантата приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Тканевые взаимоотношения в периимплантной зоне у животных возрастом 24-26 месяцев

Тканевые элементы	Доля (в % ) в 50 полях зрения при увеличении микроскопа 300х
Зона альтерации	4,9±0.5
Грануляционная ткань	4,7±0,2
Волокнисты элементы	68,9±7,6
Хрящ	5,7±0,5
Кость	18,2±5,0

Как следует из данной таблицы, в твердых тканях вокруг имплантат костная ткань не является доминирующей. Так, костные фрагменты составляют лишь пятую часть всех тканевых компонентов, причем в части полей зрения присутствуют свободно лежащие костные фрагменты. Доминирующим тканевым элементом является фиброзная ткань, которая не проявляет трансформации в костную, что снижает прочностные характеристики периимплантной зоны, что лежит в основе неэффективной имплантации и осложнений в послеоперационном периоде.

## ВЫВОДЫ

1. При медленно прогрессирующей гипергликемии сохраняется стадийность воспалительного процесса в периимплантных тканях со значительным удлинением фазы экссудации и задержкой регенерации, что снижает его интеграцию в окружающие ткани.
2. Быстро прогрессирующая гипергликемия нарушает типовую стадийность процесса воспаления в тканях, характеризуется развитием длительно существующих зон некроза, кровоизлияний без формирования клеточных реакций, а также неполноценно протекающими регенераторными процессами в тканях, окружающих имплантат.
3. У старых животных с длительно существующей гипергликемией не происходит интеграции имплантата в окружающие ткани в силу снижения регенераторных возможностей и сосудистых нарушений, связанных с высокой концентрацией глюкозы крови.

4. Результат имплантации у экспериментальных животных определяется сочетанием тяжести гипергликемии и возрастом животного.

5. Данные полученные при ретроспективном анализе историй болезни пациентов имеющих сопутствующую патологию эндокринной системы, соответствуют данным литературы и эксперимента подтверждающих, что при повышении значений уровня глюкозы в крови у лиц пожилого возраста протезирование зубов с опорой на дентальные имплантаты в 60-70 % случаях не результативно, и требует применение альтернативных способов ортопедической реабилитации.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При решении вопроса о планировании дальнейшего лечения, в том числе с использованием для восполнения утраченных зубов дентальной имплантации необходимо выяснить соматический статус пациента и в случаях повышения уровня глюкозы крови разработку плана дальнейшего лечения вести с врачом соматического профиля (эндокринолога, терапевта и др.)

2. В случаях высоких показателей сахара крови у пациентов пожилого и старческого возраста необходимо их информировать о возможном развитии тяжелых осложнений в послеоперационном периоде и предоставить информацию об альтернативных методах ортопедической стоматологической реабилитации.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Ян Бовэнь**, Чикунов С.О. Прогностическое значение морфологических изменений в периимплантатных тканях при гипергликемии различной этиологии // Сборник трудов «Стоматология славянских государств» XI Международной научно-практической конференции, посвящённой 70-летию Заслуженного профессора А.В. Цимбалистова, НИУ БелГУ. – 2018. – С. 32-34.

2. **Ян Бовэнь**, Чикунов С.О. Влияние гипергликемии на репаративные процессы в полости рта после имплантации // Сборник трудов научной конференции с международным участием, посвященной 170-летию кафедры патологической анатомии им. Академика А.И. Струкова, ПМГМУ им. И.М. Сеченова. – 2019. – С.83-84.

3. **Ян Бовэнь**, Чикунов С.О. Особенности регенерации тканей периодонта после имплантации при гипергликемии различного генеза (экспериментальное исследование)» // Сборник научных трудов, «Актуальные вопросы стоматологии» МГМСУ им. А.И.Евдокимова посвящённый 90-летнему юбилею проф. В.Н. Копейкину. – 2019.

4. **Ян Бовэнь**, Чикунов С.О., Ли Цзяци. Особенности морфологических изменений в переимплантатных тканях при гипергликемии различной этиологии // **Клиническая стоматология**. – 2019. – № 3(91) – С. 56-58

5. Ли Цзяци, Чикунов С.О., **Ян Бовэнь**. Применение мезенхимальных стволовых клеток при внутрикостной имплантации. Особенности динамических морфологических изменений в эксперименте на животных // **Клиническая стоматология**. – 2019. – № 3(91) – С. 50-55.

6. **Ян Бовэнь**, Чикунов С.О, Ли Цзяци. Прогностическое значение морфологических изменений в переимплантатных тканях при гипергликемии различной этиологии // **Институт стоматологии**. – 2019. – № 4(85) – С. 118-119.

7. Ли Цзяци, Чикунов С.О, **Ян Бовэнь**. Особенности регенерации костной ткани при внутрикостной имплантации с применением мезенхимальных стволовых клеток // **Институт стоматологии**. – 2019. – № 4(85) – С. 114-117.

8. A. Yumashev, E. Matveeva, N. Tambovtseva, JQ. Li, **BW. Yang**. Therapeutic and prophylactic application of mesodiencephalic modulation during dental impantation in pantients with type 2 diabetes mellitus/ **Periodico Tche Quimica journal**. – 2019. v.16.- №33. p.82-93 [Scopus].