

ТОЛМАЧЕВ
Валерий Евгеньевич

**ПЛАНИРОВАНИЕ И ПРОГНОЗ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ НА
ОСНОВЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛОКАЛЬНОГО
ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА**

14.01.14 – Стоматология
03.03.04- Клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Самара - 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Научные консультанты:

Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Кулаков Анатолий Алексеевич

доктор медицинских наук, профессор

Рева Галина Витальевна

Официальные оппоненты:

Давыдов Алексей Борисович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Лепилин Александр Викторович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии.

Банин Виктор Васильевич – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой морфологии человека.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород.

Защита диссертации состоится «___» _____ 201_ года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171, <http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats>).

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук,
профессор

_____ Садыков Мукатдес Ибрагимович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

На современном этапе развития стоматологии дентальная имплантация широко применяется в лечении пациентов с частичной и полной адентией. Этот метод стал традиционным и наиболее адекватным в повышении качества жизни. Современный подход к применению дентальной имплантации в сложных анатомических условиях включает проведение мероприятий, направленных на создание оптимальных условий, связанных с восстановлением костной ткани (Кулаков А.А. с соавт., 2017, 2019; Гветадзе Р. Ш. с соавт., 2018; Лосев Ф.Ф. с соавт., 2013; Moraschini V. et al., 2015; Li J. J. et al., 2018).

Несмотря на то, что на сегодняшний день дентальная имплантация является самым эффективным и высокотехнологичным способом восполнения дефектов зубных рядов, вопросы, касающиеся периода интеграции имплантатов, проблем отторжения, определения не только клинических, но и морфологических критериев нарушения остеоинтеграции, а также возможностей повторной имплантации после отторжения имплантата, до сих пор остаются полностью не решёнными (Дробышев А.Ю. с соавт., 2016; Байриков И.М., Тлустенко В.П., Комлев С.С. 2018; Рева Г.В. с соавт., 2018; Chrcanovic B.R. et al., 2015; Albrektsson T. et al., 2019).

Множество факторов – таких, как заболевания пародонта, травмы, врожденные аномалии и опухоли – могут привести к значительным потерям пародонта и окружающих его тканевых структур, образуются значительные дефекты костной ткани альвеолярного гребня, требующие объемных костно-реконструктивных вмешательств (Безруков В. М. с соавт., 2003; Грудянов А. И. 2016, 2017; Робустова Т. Г. 2003, 2008; Monje A. et al., 2015). Атрофия альвеолярного гребня при потере зубов также требует восстановления объёма, пригодного для проведения успешной имплантации (Кулаков А.А. с соавт., 2019).

Варианты костно-реконструктивных вмешательств выбираются субъективно, без опоры на объективные, патогенетически обоснованные критерии, в качестве которых можно использовать состояние структур локального иммунного гомеостаза.

Существующие сегодня рамки диагностических мероприятий не полностью соответствуют клиническим запросам современной стоматологии, так как дают условную оценку происходящим при остеоинтеграции и остеосинтезе процессам (Гончаров И.Ю., 2009; Олесова В.Н. с соавт., 2018; Брайловская Т.В. с соавт., 2018; Федяев И.М., Никольский В.Ю., Попов В.Ф., 2008; Naujokat H. et al. 2016; Anitua E. et al. 2017).

Дентальная имплантация вызывает вторичные изменения иммунного гомеостаза, определяемые, прежде всего на организменном уровне. От активности иммунокомпетентных клеток зависят процессы регенерации, ангиогенеза, остеоинтеграции имплантата, а не только профилактика гнойно-некротических осложнений (Chuanhua L. et al., 2018). Несмотря на то, что нарушение функции клеточного и гуморального иммунитета при имплантации доказано в ранее проведенных исследованиях, работ, посвященных локальному иммунному статусу в сравнительном плане при остеоинтеграции имплантатов, крайне мало, а те, которые имеются, выполнены в эксперименте (Fernández M. P. et al. 2019; Chuanhua L., et al., 2018; Heyman O., et al., 2018; Trindade R. et al., 2018; Wang S., 2018). Для развития персональных подходов и представлений о происходящих при репаративной регенерации процессах требуется расширение диагностического ресурса. Это позволит не только прогнозировать исходы имплантации, но и разрабатывать новые стратегии на клеточном и молекулярном уровнях (Хайдуков С. В. с соавт., 2015). Дентальная имплантация провоцирует вторичный иммунодефицит, определяемый, прежде всего на организменном уровне. Несмотря на то, что нарушение функции клеточного и гуморального иммунитета при имплантации доказано в ранее проведенных исследованиях, в настоящее время локальные факторы иммунной защиты рассмотрены в незначительном количестве публикаций (Пивоваров Н. А. с соавт., 2017; Bhattarai G. et al., 2013).

Учитывая взаимодействия клеточных дифферонов эпителиальной пластинки и прилежащих соединительных тканей, в том числе и костной, необходимо изучить морфологические показатели иммунного гомеостаза эпителиальных пластов, которые являются зеркальным отражением состояния

костной ткани челюстей (Menzel L.P. et al., 2019). Изучение активности и состояния ансамблей иммунокомпетентных клеток в зоне дентальной имплантации актуально и стоит в ряду ключевых проблем стоматологии.

Степень разработанности темы исследования

В результате анализа данных литературы выявлено, что большая часть публикаций направлена на изучение механизмов как остеоинтеграции после реконструктивной хирургии челюстей, так и интеграции имплантатов в зависимости от их формы, размеров, покрытий, содержащих остеоиндукторы и факторы роста, эти исследования проведены на лабораторных животных (Liu H. Y. et al., 2014; Monje A. et al., 2018; Fernández-Domínguez M. et al., 2019; Lee J. et al., 2019). Недостаточно изучена проблема морфологических критериев возможности проведения и прогноза дентальной имплантации у пациентов старших возрастных групп, а также больных с сопутствующей патологией (Амхадова М.А. с соавт., 2016; Anderson L. et al., 2013). Остеонекрозы челюстей, возникающие на фоне приёма бифосфанатов требуют глубокого изучения механизмов взаимодействий в системе эпителиально-мезенхимных дифференсов для получения возможности профилактики и консервативного лечения развивающейся патологии (Mosch A. et al., 2019). Еще одним малоизученным вопросом является патология, ассоциированная с верхнечелюстными синуситами различной этиологии, в том числе и по причине некорректной субантральной аугментации и дентальной имплантации (Бакотина А. В. 2016; Байдик О. Д. 2016, 2017).

В связи с выше изложенным, получение данных о состоянии эффекторного звена иммуноцитов, роли локального иммунного гомеостаза в регенераторном потенциале тканей пародонта, хотя и является на современном этапе ключевым, но остаётся наименее изученным. Имеющийся диагностический ресурс, основывающийся на рентгенологических методах исследования, хотя и объективный, но менее информативный, это диктует необходимость разработки критериев оценки репаративных процессов в зоне дентальной имплантации более доступных и возможных для мониторингового исследования. Поэтому есть потребность в проведении изучения закономерностей регенерации при

дентальной имплантации на основе иммуногистохимических методов в различные возрастные периоды у пациентов с сопутствующей патологией.

Необходимо провести мониторинг эффекторных иммунцитов и определить их роль в репаративной регенерации, получить объективные критерии для патогенетически обоснованного планирования, оценки эффективности лечения и прогнозирования отдалённых результатов дентальной имплантации.

Цель исследования

Повышение эффективности профилактики и лечения осложнений дентальной имплантации у пациентов различных возрастных групп в условиях нормы и сопутствующей патологии на основе изучения закономерностей изменения иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта.

Задачи исследования

1. На этапах дентальной имплантации и подготовки к ней у пациентов с дефектами зубных рядов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией определить с помощью иммуногистохимических методов наиболее информативные показатели иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта.

2. У пациентов в условиях интактных зубных рядов изучить и интерпретировать иммуногистохимические показатели слизистой оболочки рта, как модель нормы локального иммунного гомеостаза и пролиферативной активности слизистой оболочки рта.

3. На этапе хирургической санации полости рта, предшествующей дентальной имплантации дать оценку состояния пластичности слизистой оболочки рта на основе иммуногистохимического анализа.

4. Для оценки состояния остеоинтеграции дентальных имплантатов изучить информативность исследования микроциркуляторного русла методом иммунной гистохимии.

5. В процессе остеоинтеграции дентальных имплантатов у пациентов с дефектами зубных рядов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией: сахарным диабетом второго типа, онкологическими заболеваниями, множественной миеломой, остеопорозом, синдромом Горлина-Гольца, эктодермальной

дисплазией, посттравматическими дефектами челюстей и верхнечелюстными синуситами выявить отличия локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта и верхнечелюстного синуса и провести их анализ.

6. Определить роль показателей локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта в расширении спектра диагностических методов прогнозирования и профилактики осложнений дентальной имплантации.

7. Оценить эффективность использования мазков-отпечатков с помощью фазово-контрастной микроскопии как метода диагностики состояния локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта при дентальной имплантации.

Научная новизна

Впервые с помощью проведенных иммуногистохимических исследований в комплексе с рутинными гистологическими, цитологическими и клиническими методами создана модель локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта в норме и у пациентов с частичным и полным отсутствием зубов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией. Модель сформирована с учетом возраста, этапов лечения дефектов зубных рядов с применением дентальной имплантации.

Получена сравнительная характеристика слизистой оболочки рта, ее барьерных свойств и особенностей пролиферативной активности её структур с помощью иммуногистохимических методов на всех этапах лечения дефектов зубных рядов с применением дентальной имплантации.

Определена информативная значимость цитологического и иммуногистохимического исследования локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта при планировании дентальной имплантации как для соматически здоровых, так и для пациентов с сопутствующей патологией.

Впервые выявлена достоверная связь результатов исследования слизистой оболочки рта методами с минимальной инвазивностью и результатов иммуногистохимического исследования биопсийного материала на этапах лечения дефектов зубных рядов с применением дентальной имплантации на основе корреляционного анализа. Исследовано влияние дентальных имплантатов на

поддерживающий иммунный гомеостаз слизистой оболочки рта морфологический субстрат.

Проведен сравнительный анализ иммуноцитов слизистой оболочки рта при множественной миеломе. В механизме остеонекроза челюстных костей в качестве основных изменений признаны локальные мезенхимально-эпителиальные взаимодействия, которые приводят к нарушению в системе камбиальных и специализированных клеток, а также к изменению барьерных свойств эпителиальной пластинки слизистой оболочки рта в системе регионарного контроля эффекторными иммуноцитами, и к местным нарушениям репаративной регенерации эпителиального пласта и подлежащих тканей, включая костную ткань. Выявлено, что при повреждении камбиальных клеток и изменении количества иммуноцитов слизистой оболочки рта до клинического проявления остеонекроза челюстей провоцируют старт генерализованных нарушений регуляции специализации и дифференцировки стволовых клеток челюстных костей. Выявлено, что нарушение специализированных опорной и барьерной функции возникает после прекращения репаративной регенерации. У пациентов с множественной миеломой развивается вторичный иммунодефицит за счет миграции стволовых клеток крови в зону альтерации, так же, как и у онкологических больных с опухолями любой локализации. Приведена доказательная база, демонстрирующая степень значимости количественного состава эффекторных иммуноцитов в клинико-морфологической реакции при применении дентальной имплантации у пациентов в норме и при сопутствующей патологии.

Определено значение иммуноцитов слизистой оболочки рта как одного из основных прогностических признаков благоприятного течения остеоинтеграции дентальных имплантатов. Разработаны и предложены иммуногистохимические критерии коррекции сроков дентальной имплантации, которые позволяют избежать возможности возникновения нарушений остеоинтеграции имплантатов.

Теоретическая и практическая значимость

Созданная модель локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта с помощью иммуногистохимических методов исследования позволяет

улучшить врачебную тактику и возможность прогнозирования осложнений, а также повысить качество медицинской помощи пациентам с дефектами зубных рядов как соматически здоровым, так и с сопутствующей патологией различных возрастных групп. Полученные данные в результате иммуногистохимического исследования являются основой дифференцированного подхода при выборе сроков и методов дентальной имплантации. Данные выполненного исследования являются базовыми для создания патогенетически обоснованных методов лечения осложнений, связанных с нарушением остеоинтеграции дентальных имплантатов больных с сопутствующей патологией. Результаты, полученные в процессе исследования иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта, пролиферативной активности ее структур в области установленных дентальных имплантатов теоретически обосновывают оптимальные сроки протокола проведения имплантации, что способствует дальнейшему совершенствованию оказания стоматологической помощи населению.

Выполненные исследования послужили основанием для внесения изменений и дополнений в алгоритм обследования пациентов с частичным и полным отсутствием зубов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией: остеопорозом, онкологической, врожденной и эндокринной патологией, нуждающихся в рациональном протезировании с опорой на дентальные имплантаты, что в свою очередь способствовало повышению качества и эффективности работы врачей стоматологов, а также челюстно-лицевых хирургов.

Методология и методы исследования

Исследования проведены в период с 2001 по 2018 год. В исследовании применяли клинические (осмотр, анамнез) и рентгенологические методы (панорамные томограммы челюстей и томограммы лицевого черепа, выполненные на спиральных и конусно-лучевых томографах).

Объектом изучения были 332 человека (210 мужчин и 122 женщины) в возрасте от 20 до 85 лет, у которых имели место дефекты зубных рядов с атрофией костной ткани альвеолярного отростка челюстей и без таковой.

Дентальную имплантацию во всех случаях проводили отсрочено, по истечению 3 месяцев после хирургической санации в области запланированной установки имплантатов как у пациентов, которым были проведены костно-реконструктивные вмешательства, так и без таковых.

Предмет исследования – биоптаты слизистой оболочки рта и слизистой оболочки верхнечелюстного синуса: иммуногистохимическое фенотипирование на основе кластеров дифференцировки (CD4, CD8, CD5, CD10, CD34, CD68, CD163, CD117 с kit, CD204, маркера Ki-67, Tunel метода, p53, p63) как основной метод, а также фазово-контрастная микроскопия мазков и методики окраски гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, Victoria blue, по Браше и толуидиновым синим. Для определения активности ядрышкового организатора рибосом была применена импрегнация серебром.

На основании полученных результатов проведен анализ с последующей статистической обработкой данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Пластичность структур слизистой оболочки рта имеет особенности ассоциированные с сопутствующей патологией: эндокринной (сахарный диабет второго типа), остеопорозом, эктодермальной дисплазией, синдромом Горлина-Гольца, онкологическими заболеваниями, множественной миеломой, а также верхнечелюстными синуситами и предшествующей травмой лицевого черепа. Эти особенности также зависят от возрастного фактора.

2. Локальный иммунный гомеостаз слизистой оболочки рта у пациентов различных возрастных групп, имеющих сопутствующую патологию, отличается не только количеством иммунокомпетентных клеток (клеток Лангерганса, интраэпителиальных лимфоцитов, тучных клеток, макрофагов), но и в их локализации в эпителиальных пластах.

3. Состояние локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта у пациентов с сопутствующей патологией и без таковой меняется в зависимости от сроков проведения костно-реконструктивных вмешательств на челюстях и дентальной имплантации. При этом количественные показатели

иммунокомпетентных клеток слизистой оболочки рта коррелируют с показателями регенераторного потенциала.

4. Локальный иммунный гомеостаз слизистой оболочки рта является отражением состояния костной ткани альвеолярного гребня челюсти. Нормализация его показателей служит признаком оптимальной остеоинтеграции дентального имплантата и может быть принята как морфологический критерий для выбора сроков проведения и прогнозирования исходов дентальной имплантации.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов, полученных в результате исследования, подтверждена достаточным объемом материала - клинико-морфологическим обследованием и лечением 332 пациентов, изучением 747 мазков отпечатков и 1207 биоптатов слизистой оболочки рта, 219 биоптатов слизистой оболочки верхнечелюстного синуса с применением современных методов статистической обработки и анализа полученных данных. Исследование было проведено с учётом положений Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1996-2013), с информированного согласия больных или, в случае недееспособности, опекунов, по разрешению этического комитета ФГАОУ ВО ДВФУ.

Основные результаты и положения диссертационного исследования были представлены в виде докладов на: VI Российском научном форуме «Стоматология-2004» (Москва, 2004); конференции, посвященной 75-летию со дня основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии» (Санкт-Петербург, 2004); Сибирского конгресса «Челюстно-лицевая хирургия», Всероссийского симпозиума «Новые технологии в стоматологии» (Новосибирск, 2006, 2007); VI Всероссийской конференции «Стоматология детского возраста», XII Дальневосточного международного симпозиума стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Владивосток, 2006); конференции «Актуальные вопросы стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» (Новокузнецк, 2007); Всероссийской научно-

практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии» (Москва, 2008); Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярно-генетические основы функционирования цитокиновой сети в норме и при патологии» (Новосибирск, 2010); Международной научно-практической конференции «Челюстно-лицевая реконструктивная хирургия и имплантологическая реабилитация» (Москва – Красногорск, 2012); IV Всероссийской научной конференции с международным участием «Микроциркуляция в клинической практике» (19-20 апреля 2012, Москва, Россия); XVII Международный конгресс по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Нью-Йорк, США, 20.04. 2012); Международном Японо-Российском конгрессе JRIW -2013 (Токио-Киото, 25.10.2013 -4.11.2013); Всероссийской юбилейной научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии» 25-26.11.2014 г. (Санкт-Петербург, Россия); Международной научно-практической Японо-Российской конференции JRIC SS-2014-2016 (Владивосток, Россия); The 2nd Healthy and Active Aging Conference (НААС 2015, Шанхай, Китай 18-21 сентября); Международной конференции по имплантологии (26.08.2016, Минск, Белоруссия); научных конгрессах Евромедика-Ганновер (Moderne Aspekte der Prophylaxe, behandlung und Rehabillitation, Ганновер, Германия, 2013, 2014, 2016. 2017).

Апробация работы проведена на совместном заседании коллективов кафедр челюстно-лицевой хирургии и стоматологии, ортопедической стоматологии, терапевтической стоматологии, стоматологии детского возраста, стоматологии ИПО, гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол №1 от 20 марта 2019 г.).

Внедрение результатов исследования

Результаты проведенного исследования внедрены в лечебную практику отделения клинической и экспериментальной имплантологии ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, медицинского центра ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»,

КГБУЗ «Владивостокская стоматологическая поликлиника №1», ГБУЗ «Краевая детская стоматологическая поликлиника» г. Владивостока, ГАУЗ «Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи» г. Владивостока, ряда частных стоматологических клиник г. Владивостока. Теоретические положения и результаты диссертационного исследования широко используются в работе учебного отдела ФГБУ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России при обучении ординаторов и аспирантов, в учебном процессе департаментов фундаментальной медицины и клинической медицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет».

Личный вклад автора

Планирование и выполнение исследований во всех разделах диссертационной работы проведено лично автором. Автором проведен анализ публикаций в отечественной и зарубежной литературе, определены цель и задачи исследования, предложена рабочая гипотеза, определены этапы и методы исследования. Лично автором проведено клиническое обследование и лечение 332 пациентов с применением дентальной имплантации и морфологическое исследование биоптатов и мазков отпечатков слизистой оболочки рта в динамике. Автор самостоятельно собрал и обработал первичный материал, выполнил исследования с применением иммунной гистохимии и проанализировал полученные научные результаты, позволившие прогнозировать исходы дентальной имплантации, сформулировал выводы и практические рекомендации.

Публикации по теме работы

Основные положения диссертационного исследования представлены в 56 печатных работах, размещенных в российских и зарубежных научных изданиях. Из них 26 статей по теме диссертации опубликованы в рецензируемых медицинских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации; 5 статей представлены в зарубежных журналах по медицине и стоматологии, 7 научных работ изданы в журналах, включенных в электронные базы данных SCOPUS, Web of Science, PUBMED, ESCI. Содержание и результаты научного

исследования обобщены в коллективной монографии. Утверждены 2 патента РФ на изобретения по специальности № 2652966, 2653804.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 228 страницах компьютерного текста. Включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и список литературы. Диссертация содержит 23 таблицы и 55 рисунков, содержащих 127 иллюстраций, 1 приложение. Библиографический список состоит из 669 работ, из которых 178 отечественных и 491 иностранная.

Связь темы диссертационного исследования с планом основных научно-исследовательских работ университета

Исследования проведены при поддержке научного фонда Дальневосточного федерального университета, в рамках государственного задания 2014/36 от 03.02.2014 г. и 17/5740/2017/6/7, а также международного гранта Дальневосточного федерального университета (соглашение № 13-09-0602-м_а от 06.11. 2013 г.).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 332 человека (210 мужчин и 122 женщины) в возрасте от 20 до 85 лет, имеющие дефекты зубных рядов с атрофией или без, утративших зубы в результате травм, осложненного кариеса, заболеваний тканей пародонта, с наличием зубов подлежащих удалению. У 281 пациента (176 мужчин и 105 женщин) исследовали слизистую оболочку рта, у 51 пациента (34 мужчины и 17 женщин) исследовали слизистую оболочку верхнечелюстного синуса.

Все пациенты, участвующие в исследовании слизистой оболочки рта, были разделены на возрастные группы согласно периодизации Г. Крайга (Таблица 1). Распределение по группам исследования осуществлено в зависимости от сопутствующей патологии или ее отсутствия.

Таблица 1 - Распределение пациентов, участвующих в исследовании слизистой оболочки рта, по возрасту

Возрастная группа (лет)	Количество наблюдений, абс.		
	Контрольная группа	Первая группа исследования	Вторая группа исследования
1 группа (20–39)	21	32	25
2 группа (40–59)	8	46	48
3 группа (60 и более)	7	27	67
Всего	36	105	140

В первую группу исследования включены пациенты без сопутствующей патологии, с различными видами дефектов зубных рядов, которым была проведена дентальная имплантация с целью дальнейшего протезирования. Вторую группу исследования составили пациенты с различными видами дефектов зубных рядов на фоне сопутствующей патологии, обратившиеся с целью дентальной имплантации. В этой группе выделены подгруппы: СД2 – пациенты с сахарным диабетом второго типа; О1 - онкологические больные с локализацией злокачественной опухоли вне челюстно-лицевой области; ОП - больные с остеопорозом; ММ - больные с множественной миеломой; СГГ - больные с синдромом Горлина—Гольца, для которых характерны множественные кератокисты челюстей; ЭДД – пациенты, страдающие ангидротической эктодермальной дисплазией, с характерным симптомом – первичным частичным отсутствием зубов. Выделена подгруппа пациентов с посттравматическими дефектами челюстей (ПТД).

Контрольная группа – пациенты с переломами и вывихами зубов в условиях интактных зубных рядов, соматически здоровые, со сроком обращения не более одного часа после получения травмы.

В первой и второй группе исследования выделены подгруппы пациентов, которым были проведены костно-реконструктивные вмешательства на этапе хирургической санации полости рта и те, кому таковых не проводили (Таблица 2). Костно-реконструктивные вмешательства на этапе хирургической санации полости рта проводили в объеме аугментации в пределах лунок удаленных зубов и их корней в области запланированной имплантации, а так же в объеме открытого и закрытого синус-лифтинга.

Таблица 2 - Распределение пациентов, участвующих в исследовании слизистой оболочки рта, по группам и характеру сопутствующей патологии

Группа/ подгруппа		Воз- растная группа по Г. Крайгу	Пациенты без предварительного костно- реконструктивного вмешательства		Пациенты с предварительным костно- реконструктивным вмешательством		Всего				
Первая группа исследования		1	51		17	54		15	105		32
		2			24			22			46
		3			10			17			27
Вторая группа исследования	ПТД	1	5 2	9	3	88	9	-	14 0	18	6
		2			3			3			6
		3			3			3			6
	СД2	1		23	4		39	3		62	7
		2			8			14			22
		3			11			22			33
	О1	1		11	3		10	3		21	6
		2			3			4			7
		3			5			3			8
	ОП	1		6	0		24	-		30	-
		2			3			7			10
		3			3			17			20
	ММ	1		3	-		-	-		3	-
		2			3			-			3
		3			-			-			-
	СГГ	1		-	-		3	3		3	3
		2			-			-			-
		3			-			-			-
	ЭДД	1		-	-		3	3		3	3
		2			-			-			-
		3			-			-			-
Контрольна я группа		1	36								21
		2									8
		3									7
ИТОГО		1	103	27	142	30	281	78			
		2		44		50		102			
		3		32		62		101			

Во всех случаях была использована смесь измельченного ауто- и ксенотрансплантата. Для получения аутоотрансплантата использовали донорские участки кости в подбородочном отделе и области ветви нижней челюсти. В подгруппе пациентов с посттравматическими дефектами челюстей по показаниям

были выполнены реконструктивные вмешательства на мягких тканях по авторским методикам (патенты РФ № 2652966, 2653804).

Дентальную имплантацию во всех случаях проводили отсрочено, по истечению 3 месяцев после хирургической санации в области запланированной установки имплантатов как у пациентов, которым были проведены костно-реконструктивные вмешательства, так и без таковых. Во всех случаях немедленной нагрузки на имплантат протезной конструкцией не проводили, формирователь десны устанавливали через 3 месяца после проведения имплантации и 6 месяцев после хирургической санации полости рта. Этих сроков придерживались с целью стандартизации сроков морфологического, цитологического и ИГХ исследования, без нарушения сроков остеоинтеграции. Использовались различные виды винтовых имплантатов, имеющих регистрацию в Российской Федерации (Astra Tech Dental System, Nobel Bio Care, Conmet, Bego Semados, OnewayBiomed, Alpha Bio), с соблюдением хирургического протокола, рекомендованного производителем.

Отдельно были выделены пациенты с хроническими верхнечелюстными синуситами, так как объектом исследования являлась слизистая оболочка верхнечелюстного синуса. Обследован 51 человек (34 мужчины и 17 женщин) в возрасте от 20 до 85 лет, с полным или частичным отсутствием зубов. Потеря зубов произошла в результате травм, осложненного кариеса, заболеваний тканей пародонта. Пациентов верхнечелюстными синуситами распределили с учётом возрастных групп согласно периодизации Г. Крайга и давности заболевания. Контрольную группу составили 9 пациентов с перфорацией верхнечелюстного синуса в условиях отсутствия периапикальных очагов воспаления, соматически здоровые, со сроком обращения не более одного часа после перфорации.

Пациентов отбирали с учетом противопоказаний к проведению имплантации (Кулаков А.А., Лосев Ф.Ф., Гветадзе Р.Ш. 2006).

Обследование органов и тканей челюстно-лицевой области включало:

- опрос;
- внешний осмотр лица, определение размеров отделов лица;

- пальпацию различных отделов лицевого черепа;
- оценку состояния имеющихся зубов и зубных рядов (состояние пародонта, подвижность имеющихся зубов, вид прикуса, тип жевания);
- визуальный и при необходимости инструментальный контроль гигиены;
- определение конфигурации альвеолярных отростков челюстей путем пальпации;
- оценку межальвеолярного расстояния в области отсутствующих зубов;
- определение расстояния между зубами и альвеолярным отростком челюсти антагониста, достаточности его для установки протезной конструкции;
- изготовление диагностических моделей, определение центральной окклюзии, фиксацию диагностических моделей в окклюдаторе в положении центральной окклюзии, исследование межальвеолярных взаимоотношений, размеров альвеолярных отделов челюстей, межальвеолярного расстояния, вида прикуса;

Методы лучевой диагностики:

- внутриротовая контактная рентгенография проведена 211 пациентам;
- панорамная томография, проведена 87 пациентам. На аппарате OP200 D фирмы Instrumentarium Dental, Финляндия – для панорамной рентгенографии зубного ряда, височно-нижнечелюстных суставов, верхнечелюстных синусов. Со специальными программами: ортогональной, ОртоЗон и широкоарочной проекциями. Возможность подключения цефалостата.
- конусно-лучевая компьютерная томография (КЛКТ), проведена 156 пациентам, на аппарате NewTom VGi evo (Италия), компьютерном томографе «GALILEOS» фирмы «Sirona» с возможностью 3D – реконструкции со специальным программным обеспечением Galaxis.tomograf galileos. Обработку полученных на КЛКТ сканов с помощью программ, которые позволяют получать мультипланарные реконструкции, измерять линейные параметры частей лицевого черепа и плотности тканей в единицах Хаунсфилда (1975). Для рентгенологического обследования было применено лицензионное компьютерное оборудование различных производителей и программного обеспечения для обработки данных («iCATVision», «Ez-vision», «NNT», «Xelis»).

Инцизионную биопсию СОР проводили при хирургических вмешательствах, связанных с этапами дентальной имплантации и подготовкой к ней. При этом иссекали фрагменты слизистой оболочки десны объемом не менее 0,5-1 мм³. Всего изучено 1426 биопсий.

Этапы исследования (сроки проведения биопсии):

- на первом этапе биопсию проводили при хирургической санации полости рта – удалении зубов и их корней в области запланированной имплантации, на этом же этапе проводили костно-реконструктивные вмешательства;
- на втором этапе биопсию проводили при установке дентального имплантата, что соответствовало истечению трехмесячного срока после первого этапа;
- на третьем этапе биопсию проводили при установке формирователя десны, что соответствовало трехмесячному сроку после имплантации и шестимесячному сроку с момента хирургической санации полости рта и первой биопсии.

Биопсию СОВЧС проводили под контролем эндоскопической оптики HOPKINS II 70° биопсийными и захватывающими щипцами по Heuwieser (Karl Storz) через вновь сформированное соустье после инфундибулотомии. Этапы исследования (сроки проведения биопсии) были совмещены с хирургическими вмешательствами:

- на первом этапе биопсию проводили в начале лечения, при проведении инфундибулотомии и хирургической санации полости рта – удалении зубов и их корней в области запланированной имплантации;
- на втором этапе биопсию проводили после купирования воспалительных явлений в верхнечелюстном синусе, подтвержденного клиническими и лучевыми методами обследования, во время открытого синус-лифтинга, через 1 месяц с момента проведения инфундибулотомии;
- на третьем этапе биопсию проводили после открытого синус-лифтинга, через 3 месяц с момента проведения инфундибулотомии;
- на четвертом этапе биопсию проводили при установке дентального имплантата, через 6 месяцев после проведения инфундибулотомии;

- на пятом этапе биопсию проводили на момент установки формирователя десны, что соответствовало трехмесячному сроку с момента имплантации.

Биопсию слизистой оболочки рта и верхнечелюстного синуса проводили после получения информированного добровольного согласия на оперативное (инвазивное) вмешательство.

Морфологические методы исследования. Идентификация иммунокомпетентных клеток осуществлялась с применением современных высокочувствительных иммуногистохимических методов EPOS и En Vision. Для иллюстрации и последующего сравнительного анализа динамики количества в разные периоды онтогенеза человека, для доказательства участия иммуноцитов в механизмах перестройки и физиологической и репаративной регенерации структур СОР проводили иммуногистохимическое фенотипирование с помощью кластеров дифференцировки (Cluster of Differentiation - CD) - CD4/CD8, CD5, CD10, CD34, CD68, CD117 с kit, CD163, CD204 являлось ведущим методом морфологического исследования. По митотическому индексу посредством маркера Ki-67 (количество митозов на 100 клеток) определяли интенсивность пролиферации в эпителиальной пластинке. TUNEL методом для световой микроскопии изучен апоптоз, а для изучения апоптических процессов в процессе остеоинтеграции имплантатов получена характеристика локализации p53. Также исследован маркер ранней клеточной дифференцировки p63, связанный с проапоптическими факторами. Несмотря на различную локализацию антигенов в клеточных структурах (лизосомы, мембраны, ядра, комплекс Гольджи) идентификацию иммунокомпетентных клеток проводили по одинаковой схеме. Подсчёт клеток проводили в ста полях зрения. Подсчитывали количество иммуноцитов в поле зрения, исключали фон.

Маркеры DAKO использовали по оригинальным протоколам иммуногистохимических исследований с целью определения фенотипов иммунокомпетентных клеток.

Также применяли традиционные методики окраски: гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, Victoria blue, по Браше и толуйдиновым синим. Для

определения активности ядрышкового организатора рибосом была применена импрегнация серебром. Параллельно проводили цитологический анализ мазков-отпечатков с поверхности СОР с помощью фазовоконтрастной микроскопии.

Иммуноморфологическое исследование проводили в лабораториях патоморфологии и иммунной гистохимии университета г. Ниигата (Япония) и Международном медицинском научно-образовательном центре (IMERC, Ниигата, Япония). Изучение гистологических срезов и мазков-отпечатков осуществляли с помощью микроскопа Olympus BX52 с оригинальным программным обеспечением для морфометрии, цифровой фотокамеры CD25 Olympus с программным обеспечением DPx25, посредством которого получены иллюстративный материал и статистические данные.

Статистическую обработку результатов провели с использованием программ IBM SPSS Statistics 17.0.1, STATISTICA 10, Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в результате морфологического исследования биоптатов СОР пациентов **группы контроля**, привели к созданию модели, отражающей нормальный локальный иммунный гомеостаз СОР (Рисунок 1).

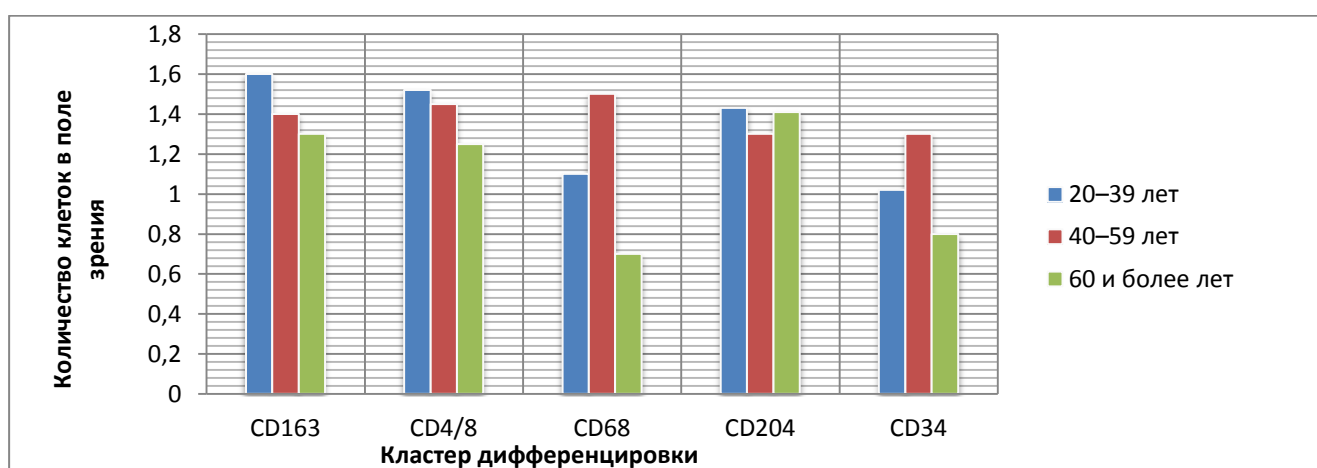


Рисунок 1 - Показатели локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов группы контроля в возрастном аспекте. Различия данных в возрастных группах являются статистически значимыми ($p < 0,01$)

У пациентов **первой группы исследования на первом этапе** при цитологическом исследовании СОР выявили эпителиоциты без контаминации микроорганизмами. В эпителиальном пласте соотношение ядерных, безъядерных и клеток с разрушенной цитоплазмой соответствовало 1:4:0. Ядерно-цитоплазматическое отношение находилось в диапазоне от 0,11 до 0,43 и менялось в возрастном аспекте. Фазовоконтрастная микроскопия мазков СОР подтвердила наличие эпителиоцитов с преимущественным содержанием безъядерных клеток, частично в состоянии паракератоза, с пикнотизированными ядрами. С помощью иммунной гистохимии выявили активность гена Ki67 и экспрессию p53, p63, CD4/CD8, CD34, CD68, CD163, CD204, апоптозирующие клетки, что позволило определить соотношение клеточных элементов в дифферонах эпителиальной пластинки в возрастном аспекте (Рисунок 2).

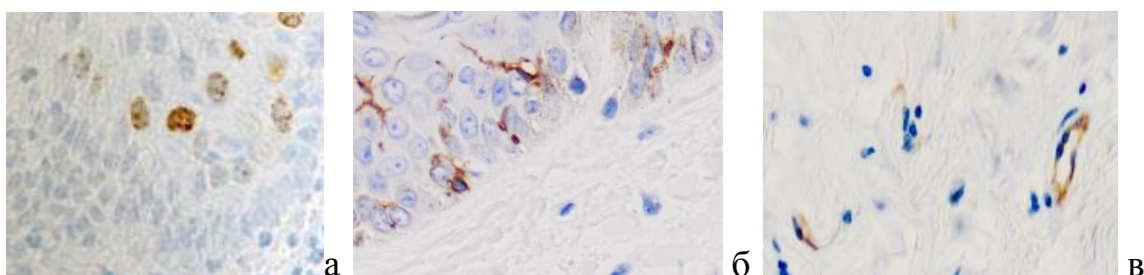


Рисунок 2 - Слизистая оболочка рта пациентов первой группы исследования: а - локализация Ki67; б - CD68, в - CD34. Иммунная гистохимия. Микрофото, ув. X200

У больных старших возрастных групп изменение гистоархитектоники СОР при гиперкератозе свидетельствовало об извращении процессов дифференцировки, а при появлении атрофии – процесса десквамации эпителия. Безъядерные эпителиальные клетки, которые идентифицировали в первой возрастной группе, свидетельствуют о нормальном течении процесса дифференцировки, кератинизации и слущивания. Во второй возрастной группе увеличивается количество эпителиоцитов, которые находятся в состоянии паракератоза, тогда как регенераторный потенциал более выражен в первой возрастной группе. Антигенпрезентирующие клетки идентифицированы в камбиальных слоях эпителия – базальном и шиповатом, это свидетельствует о

выраженных барьерных свойствах эпителия. Локализация CD34 выявила присутствие кровеносных капилляров до трёх в поле зрения. Апоптозирующие клетки идентифицированы только в поверхностных слоях, тогда как проапоптические факторы локализованы в шиповатом, это говорит о репрессии в геноме локусов, которые отвечают за пролиферацию (Рисунок 3).

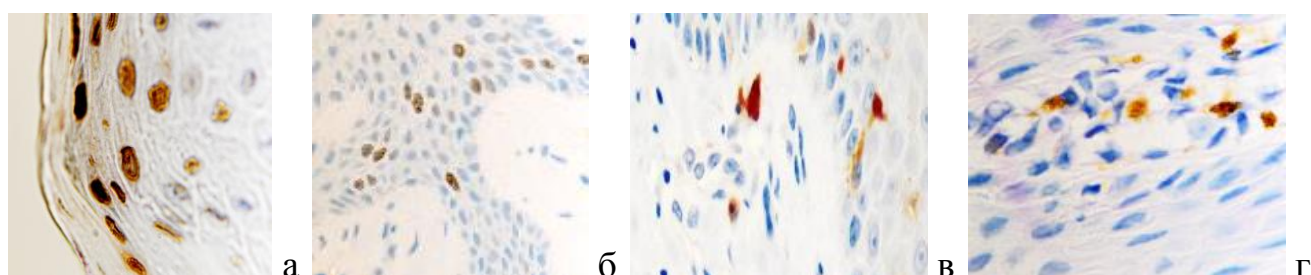


Рисунок 3 - Слизистая оболочка рта пациентов первой группы исследования: а - TUNel-позитивные клетки, б - p53; в - CD163, г - CD4. Иммунная гистохимия. Микрофото, ув. X200

В базальном слое эпителия и прилежащих слоях собственной пластинки идентифицированы макрофаги CD68. Соотношение иммуноцитов CD4 и CD8 (3:1) выявило, что локальный иммунный гомеостаз соответствует значениям возрастной нормы. Определение в шиповатом слое эпителия специфических Т-супрессоров, которые подавляют иммунный ответ, говорит о том, что регуляция клеточной пролиферации является одной из основных функций этих клеток (Рисунок 4).

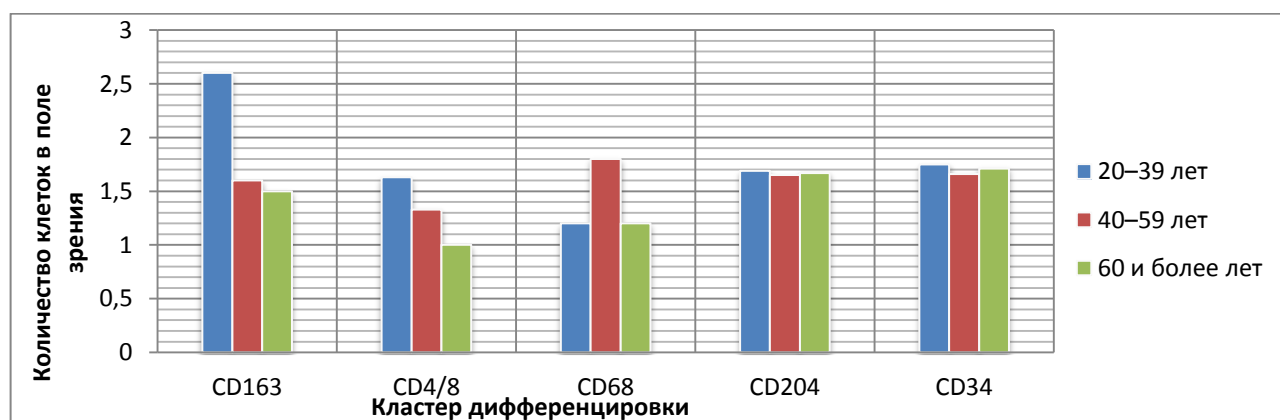


Рисунок 4 - Показатели локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов первой группы исследования на первом этапе исследования при хирургической санации полости рта в возрастном аспекте. Различия данных в возрастных группах являются статистически значимыми ($p < 0,01$)

В первой группе исследования без предварительно выполненных костно-реконструктивных вмешательств в биоптатах СОР, забранных на момент проведения дентальной имплантации, выявлено повышенное содержание активированных макрофагов, тучных клеток и клеток Лангерганса. Предшественники дендритных клеток уменьшались в своем количестве, либо оставались неизменны. Значительно (на 26,3 %) повышалась пролиферативная активность эпителия. У пациентов на этапе установки формирователя десны снижалось количество активированных макрофагов и Т-лимфоцитов, увеличивалось число тучных клеток, уменьшалась митотическая активность эпителиального пласта.

В первой группе пациентов после проведения костно-реконструктивных вмешательств на момент проведения дентальной имплантации исследования мазков показали изменение цитологической картины в сравнении с аналогичной группой пациентов, которым не проводили костно-реконструктивные вмешательства. Идентифицировали клетки за пределами эпителиального пласта, утратившие связь с пластинкой покровного эпителия, свободную бактериальную флору, многочисленные эпителиоциты без контаминации микроорганизмами, макрофаги, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, что свидетельствует о высоких защитных свойствах иммунофагоцитарного звена. Определены клетки с фигурами митоза, что соответствует высокому регенераторному потенциалу (Рисунок 5, 6).

Выявлены апоптозирующие клетки, содержащие либо одно пикнотизированное ядро, либо несколько небольших ядерных фрагментов.

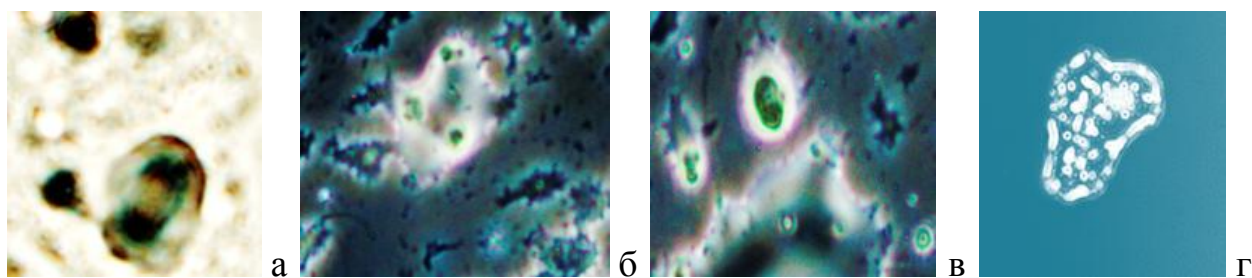


Рисунок 5 - Слизистая оболочка рта. Фазово-контрастная микроскопия: а - митоз эпителиоцита; б - дендритная клетка; в – макрофаг; г - эпителиоцит контаминированный микроорганизмами. Микрофото. Ув. Х400



Рисунок 6 - Слизистая оболочка рта в первой группе исследования с предварительными костно-реконструктивными вмешательствами после дентальной имплантации в динамике. Иммунная гистохимия: а - CD163; б - CD68; в - CD34. Микрофото. Ув. а, в X100; б X200

У пациентов **второй группы исследования подгруппы с сахарным диабетом второго типа** в слоях эпидермиса идентифицировалось нарушение межклеточных контактов, ярко выраженное в шиповатом слое. Межклеточные соединения в ряде случаев сохранены, однако определены межклеточные щели с чёткими контурами цитоплазмы шиповатых клеток по направлению к апикальной поверхности (Рисунок 7). Исходный фон иммуноцитов слизистой оболочки рта в подгруппе пациентов с СД2 статистически значимо отличался от данных контрольной и первой группы исследования по всем показателям.

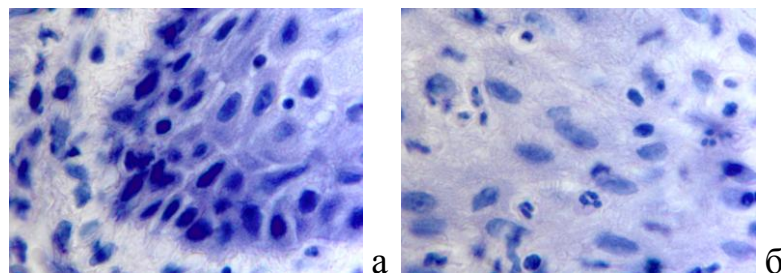


Рисунок 7 - Слизистая оболочка рта пациента второй группы исследования с сахарным диабетом второго типа на первом этапе: а - мужчины 39 лет (инфильтрация, преимущественно лимфоцитарная в собственной пластинке, базальном и шиповатом слое); б - мужчины 66 лет (структура эпителиального пласта – выраженная инфильтрация в собственной пластинке клетками крови). Окраска толуидиновым синим. Микрофото. Ув. X400

При длительном отсутствии зубов, вне зависимости от возраста, на поверхности СОР выявлены слущенные эпителиоциты, контаминированные микрофлорой, дендритные клетки, лимфоциты, а в случае длительного использования металлических протезных конструкций – металлические

наночастицы, иногда свободно расположенные в ротовой жидкости, иногда фагоцитированные эпителиоцитами (Рисунок 8 - 10).

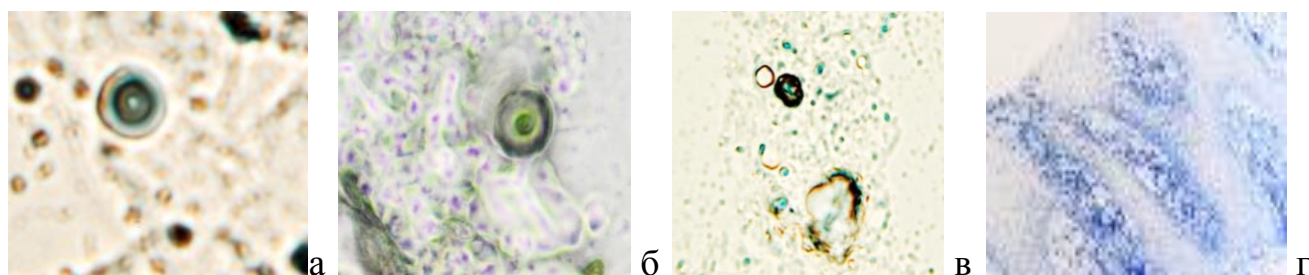


Рисунок 8 - Слизистая оболочка рта пациентов с сахарным диабетом второго типа: а-в - фазовый контраст (клетки в окружении наночастиц металла), г – структура эпителиального пласта. Микрофото. Ув. а-в X400, г X100

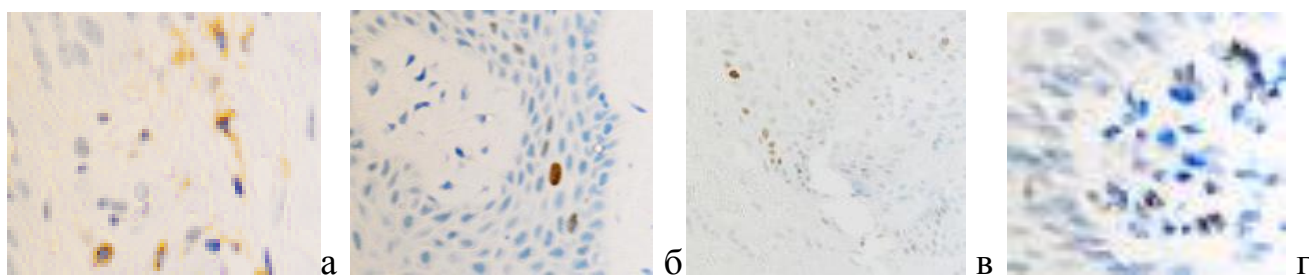


Рисунок 9 - Слизистая оболочка рта пациентов с сахарным диабетом второго типа: а - CD163; б - Ki67; в - p53, г - CD68. Иммунная гистохимия. Микрофото. Ув. X200

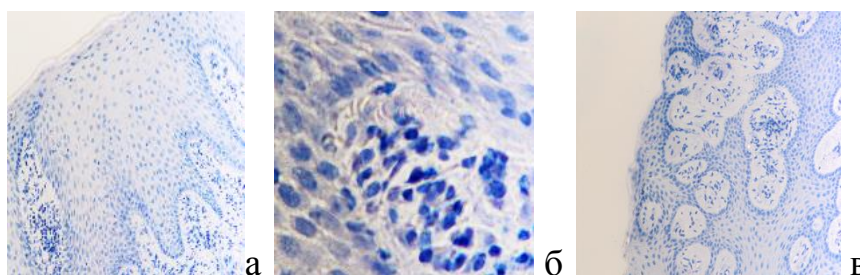


Рисунок 10 - Слизистая оболочка рта пациентов с сахарным диабетом второго типа. Длительность заболевания: а - 2 года; б - 3 года; в - 10 лет. Микрофото. Ув. а, в X100, б X200

Регенерация эпителиального пласта в контрольной группе проходит в соответствии с процессами дифференцировки кератиноцитов, несмотря на процессы апоптоза, а у пациентов с CD2 имеются нарушения дифференцировки, что сопровождается уменьшением защитных свойств эпителия (Рисунок 11)

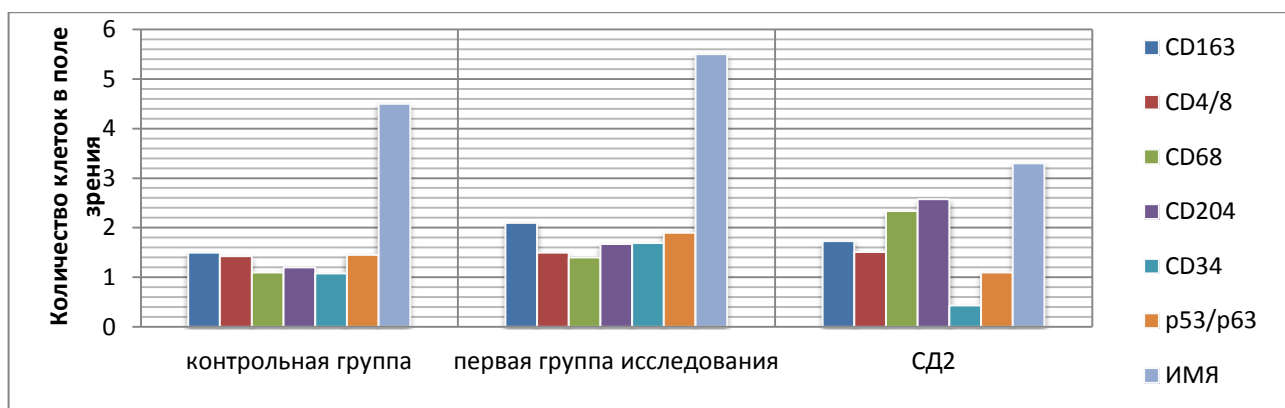


Рисунок 11 - Показатели иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов с сахарным диабетом второго типа на первом этапе исследования при хирургической санации полости рта

Единичные клетки Лангерганса на границе шиповатого и базального слоев расположены в основном в собственной пластинке СОР, что позволяет предполагать нарушение антигенпрезентации посредством эффекторных иммунцитов, а компенсацию барьерных свойств эпителиального пласта обеспечивают антигенпрезентирующие свойства кератиноцитов. Отмечено, что митотически делящиеся клетки группируются преимущественно на дне эпителиальных гребешков. При этом количество митозов достигает 1 на 100 клеток, что ниже в 2 раза по сравнению с нормой.

Сравнительный анализ показал, что пролиферативная активность кератиноцитов в биоптатах первой группы исследования и биоптатах слизистой оболочки на фоне СД2 усилена не только в базальных слоях, но и в шиповатом слое. Однако высокая скорость пролиферации не сопровождается соответствующей дифференцировкой и восстановлением барьерной функции. Поэтому возможность полноценной дифференцировки и специализации кератиноцитов для обеспечения адекватной регенерации с восполнением дефекта и обеспечением защитных свойств после дентальной имплантации не реализуется. В этом случае повышенная пролиферативная активность приводит к снижению барьерных свойств эпителиоцитов. Наряду с этим быстро истощается регенераторный потенциал, что приводит к исчезновению базальных кератиноцитов. Затем происходит разрушение базальной мембраны. Дефицит камбия не дает закрыться дефекту эпителия способом реституции. Собственная

пластинка образует множественные сосочки, которые внедряются в эпителий, в ней содержатся тонкостенные сосуды. Анализ результатов исследования ЛИГ на первом этапе исследования позволил сделать вывод о декомпенсации регенераторного потенциала, снижении пластических процессов у пациентов с СД2. Отмечена сниженная реакция эффекторных иммуноцитов СОР в процессе остеointеграции дентальных имплантатов у пациентов с СД2 (Рисунок 12).

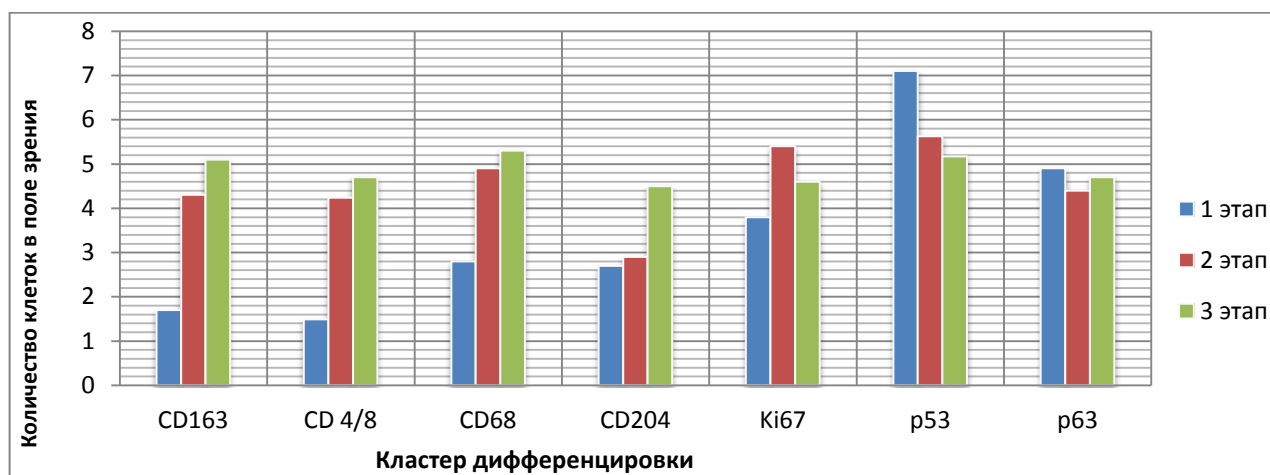


Рисунок 12 - Динамика показателей локального иммунного гомеостаза и пластичности слизистой оболочки в динамике процесса остеointеграции имплантатов у пациентов второй группы исследования с сахарным диабетом второго типа

Выявлены отличия не только в количестве эффекторных иммуноцитов в СОР, но и в локализации их расположения в толще эпителиальной пластинки. Установлено отличие и в количестве пролиферирующих клеток, которые необратимо вступили в митоз. Снижение количества CD163 клеток в эпителиальной пластинке можно связать с их выходом в собственную пластинку слизистой оболочки либо на её поверхность после их исчезновения из эпителиальных пластов. В составе дифферонов эпителиального пласта, а не в собственной пластинке идентифицировали CD4/CD8. Несоответствие репаративной регенерации и физиологического запроса барьерных функций эпителия было определено в результате анализа идентификации p53, p63, Tinel – позитивных клеток в эпителиальной пластинке. Повышенные показатели апоптоза, выявленные с помощью методов идентификации p53, Tinel-позитивных клеток на фоне снижения показателей p63, свидетельствуют о нарушении

дифференцировки и специализации эпителия. У пациентов с СД2 в процессе остеоинтеграции имплантатов морфологические изменения выражались в том, что митотический индекс в эпителии был снижен, не достигая, однако, величин нормы. Показатели тучных клеток и иммунокомпетентных эффекторных иммуноцитов в СОР в области введения имплантата могут служить важным прогностическим критерием нормального течения остеоинтеграции имплантатов и, соответственно, показателем наличия или отсутствия осложнений (Рисунок 13).

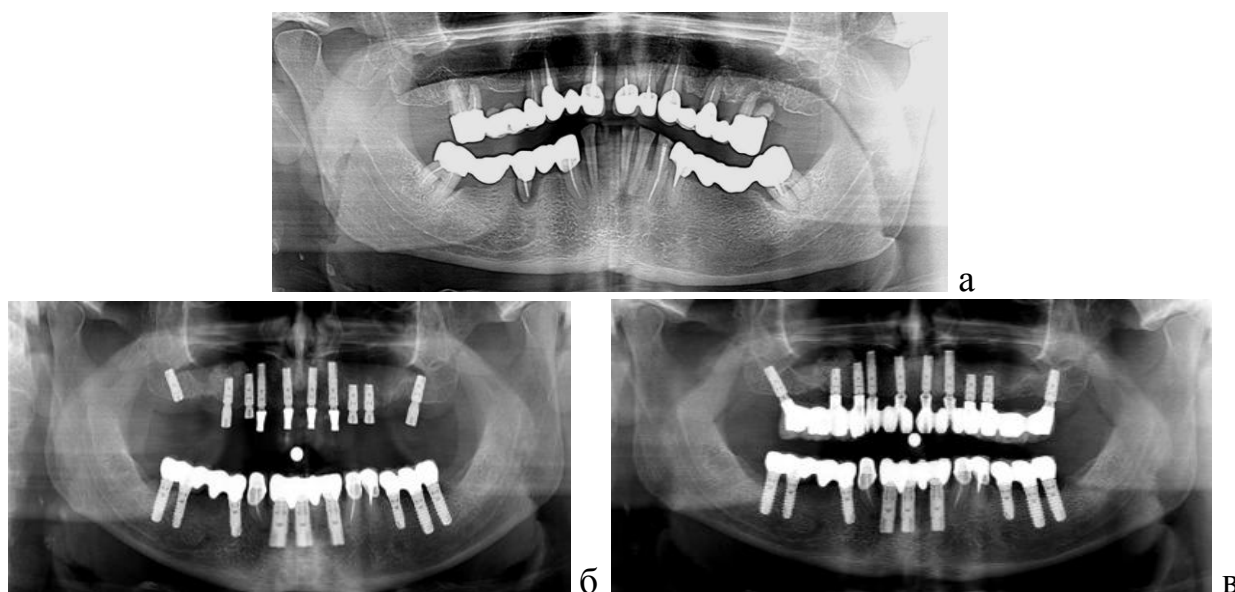


Рисунок 13 - Панорамные томограммы челюстей пациента Г., 50 лет, второй группы исследования с сахарным диабетом второго типа: а - на первом этапе исследования (результаты иммунной гистохимии биопсийного материала - CD4/CD8 – 1,62; CD34 – 0,57; CD68 – 2,54; CD163 – 1,82; CD204 – 2,64; Ki67 – 3,34; p53 – 1,42; p63 – 1,28); б - на третьем этапе исследования (результаты иммунной гистохимии биопсийного материала - CD4/CD8 – 2,53; CD34 – 3,48; CD68 – 4,3; CD163 – 2,87; CD204 – 3,12; Ki67 – 7,14; p53 – 1,12; p63 – 1,57); в - отдаленный результат – 6 лет после протезирования с опорой на дентальные имплантаты

Увеличение количества тучных клеток, наличие большого количества макрофагов в собственной пластинке СОР и отсутствие антигенпрезентирующих эффекторных иммуноцитов в эпителиальной пластинке являются неблагоприятным прогностическим показателем.

Во второй группе исследования у пациентов с посттравматическими дефектами челюстей в мазках-отпечатках идентифицировали эпителиоциты с

контаминацией микроорганизмами, что свидетельствовало об уменьшении барьерного качества эпителиальных пластинок (Рисунок 14).

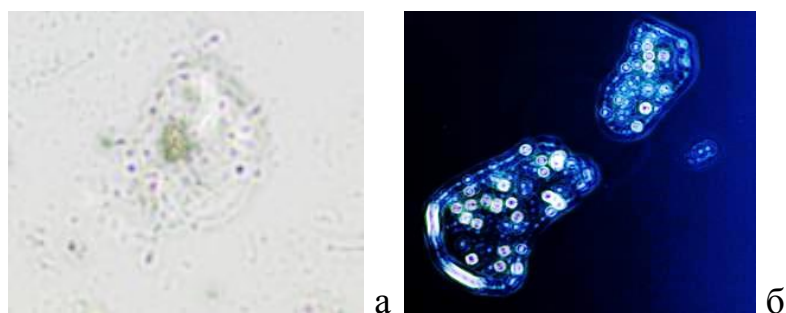


Рисунок 14 - Слизистая оболочка рта пациента второй группы исследования с посттравматическими дефектами челюстей на первом этапе исследования. Фазовый контраст, ядерные эпителиоциты с контаминацией микроорганизмами. Микрофото. Ув. X400

Отмечен рост количества макрофагов CD163 в собственной соединительнотканной пластинке СОР (Рисунок 15).

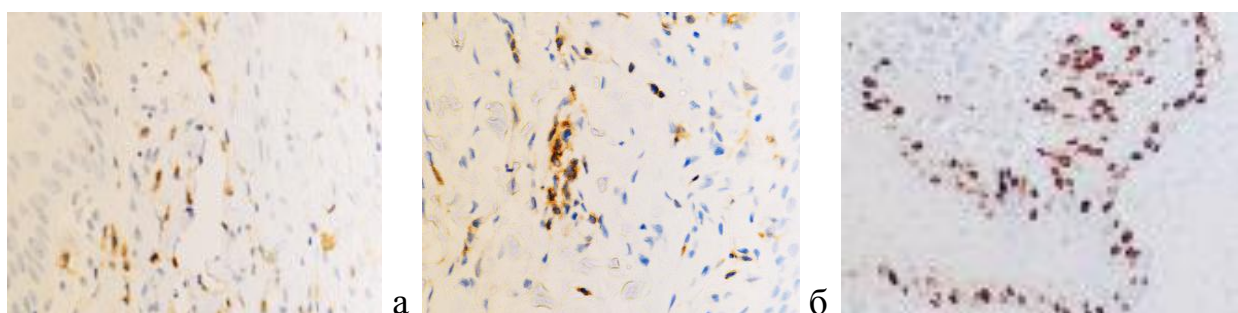


Рисунок 15 - Слизистая оболочка рта пациента второй группы исследования с посттравматическими дефектами челюстей на первом этапе исследования: а, б - локализация CD163, в - метка Ki67 клеток, необратимо вступивших в митоз. Иммунная гистохимия. Микрофото. Ув. X200

При нарастании количества иммуноцитов CD4 и CD8 в слизистой оболочке их соотношения остаются в пределах нормы, что говорит об адекватном иммунном ответе в условиях посттравматических изменений тканей.

Сосудистая сеть идентифицируется не только в зоне, прилежащей к эпителию, но и в более глубоких слоях собственной пластинки. Показатели ЛИГ, соответствие трофического обеспечения и пластичности отражены на рисунке 16.

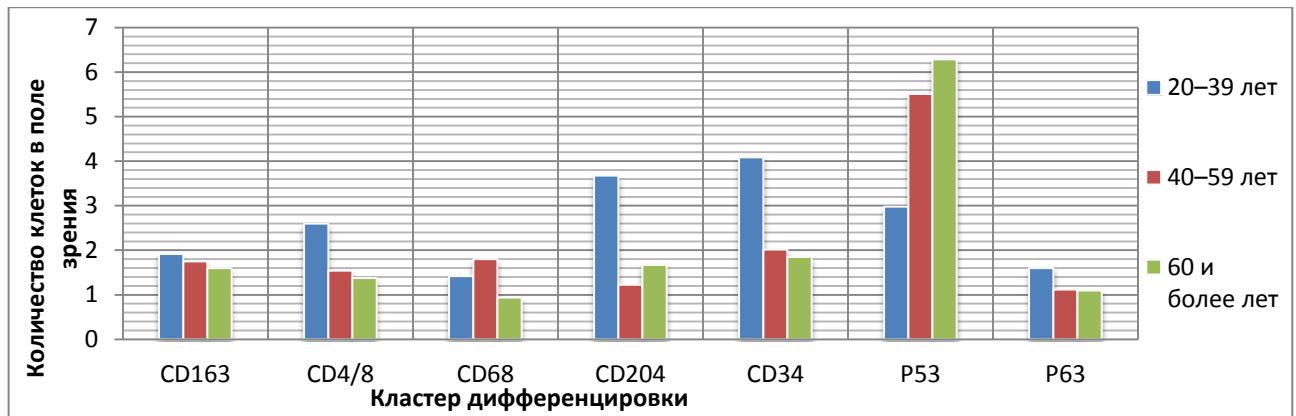


Рисунок 16 - Показатели локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов второй группы, с посттравматическими дефектами челюстей на первом этапе исследования при хирургической санации полости рта в возрастном аспекте. Различия данных в возрастных группах являются статистически значимыми ($p < 0,01$)

У пациентов второй группы исследования с посттравматическими дефектами челюстей после костно-реконструктивных вмешательств и последующей имплантации в СОР изменилось количество CD34, CD68, CD163, p53. Выявленные изменения свидетельствуют не только о высоком регенераторном потенциале, но и о повышенном уровне апоптоза.

В мазках-отпечатках пациентов **второй группы исследования** определяли клетки крови. Эти изменения говорят о нарушении целостности эпителиальной пластинки в области инсталляции дентального имплантата и повышенной проницаемости сосудистой стенки. Выявлены клетки, контаминированные микроорганизмами. Ядерно-цитоплазматическое отношение сдвигалось в сторону ядра (на 14–22 %). Отмечен рост ядросодержащих эпителиоцитов (7:5), а это свидетельствует об усилении в поверхностных слоях эпителия дистрофических процессов. На основе анализа полученных данных определили, что механизм остеонекроза челюстей у пациентов с онкопатологией, множественной миеломой и остеопорозом детерминирован нарушениями в системе взаимодействия антигенпрезентирующих макрофагов CD68, эффекторных макрофагов CD163, повышенным апоптозом, сниженным регенераторным потенциалом и отсутствием реституции кератиноцитов, которое может быть связано не только с нарушением межклеточных эпителио-мезенхимных взаимодействий, но и с синтезом

сигнальных молекул, запускающих репаративную регенерацию. При изучении биоптатов десны пациентов, страдающих миеломой, было установлено, что имеется гиперемия, гипертрофия и инфильтрация не только в пределах соединительнотканной пластинки СОР, но и инфильтрация лейкоцитами в эпителиальной пластинке (Рисунок 17).

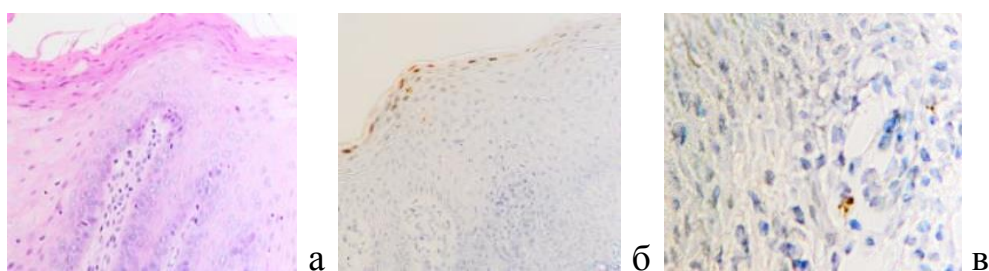


Рисунок 17 - Слизистая оболочка рта пациента 56 лет при множественной миеломе. Апоптоз эпителия в камбиальном и шиповатом слоях, в собственной пластинке; лимфоцитарная инфильтрация: а - окраска гематоксилином и эозином, б, в – иммуногистохимия, б -. Микрофото. Ув. X200

При множественной миеломе, в отличие от других сопутствующих патологий, высокая активность CD34 проявляется в эндотелии кровеносных сосудов всех калибров, включая мелкие капилляры (5-7 мкм).

Наиболее показательно появление большого количества клеток, меченых p53, что свидетельствует о развитии повышенного апоптоза как отклонения от нормальной физиологической и даже репаративной регенерации, отсутствии реституции, снижении регенераторного потенциала и исчезновении собственных камбиальных кератиноцитов (Рисунок 18).

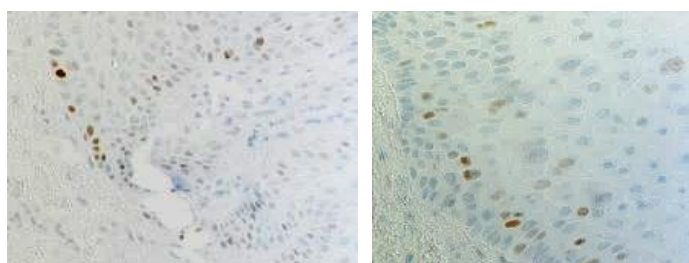


Рисунок 18 - Слизистая оболочка рта пациентки с множественной миеломой. Локализация p53. Иммуногистохимия. Микрофото. Ув. X200

CD5 клетки расположены в рыхлой волокнистой соединительной ткани сосочкового слоя СОР, и только незначительно представлены среди

кератиноцитов. По полученным результатам нарушение антигенпредставления связано со снижением количества CD5 в эпителиальных пластах.

При сравнительном анализе пролиферативной активности кератиноцитов по данным активности гена белка Ki67 в срезах биоптатов пациентов контрольной и первой группы исследования и пациентов страдающих миеломой, выявлено усиление пролиферативной активности клеток базального и шиповатого слоёв, что соответствует полученным данным по выявлению ЯОР (Рисунок 19).

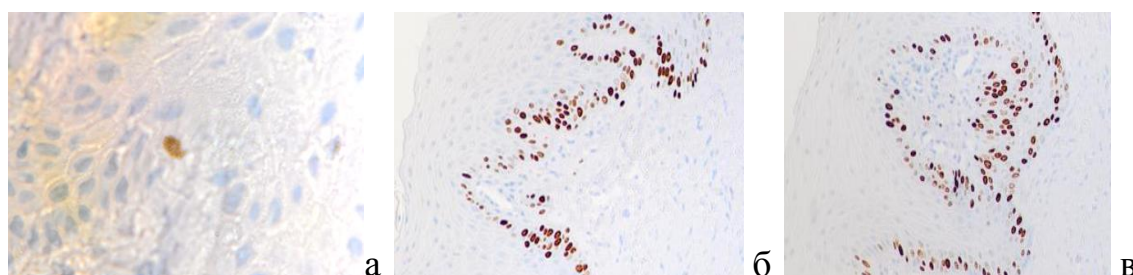


Рисунок 19 - Слизистая оболочка рта пациентов: а - группы контроля, б, в - с множественной миеломой. Иммунная гистохимия. Локализация гена белка Ki67. Микрофото, Ув. а - X400, б, в - X100

Фактор дифференцировки эпителиоцитов, соответствующий физиологическому запросу ткани и отражающий барьерные свойства эпителия, был снижен по сравнению с показателями в контроле (Рисунок 20).

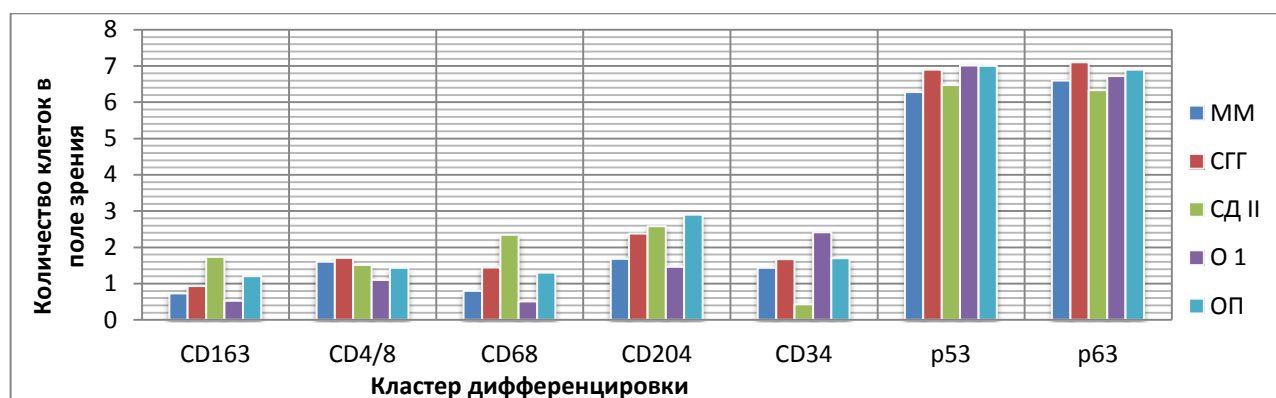


Рисунок 20 - Показатели локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов второй группы на первом этапе исследования при хирургической санации полости рта

При анализе результатов исследования ЛИГ СОР у пациентов с множественной миеломой, онкологической патологией, эктодермальной

дисплазией, синдромом Горлина Гольтца на первом этапе исследования получены данные, свидетельствующие о декомпенсации регенераторного потенциала, снижении пластических процессов. Подсчёт иммуноцитов выявил статистически значимые отличия не только в их содержании в СОР, но и в локализации в толще эпителиальной пластинки.

Во второй группе исследования, после проведения имплантации содержание иммуноцитов уменьшено сравнительно с таковым в группе контроля и первой группе исследования. Снижено количество тучных клеток, являющихся одними из основных продуцентов межклеточного вещества соединительной ткани. Уменьшение количества эффекторных иммуноцитов, особенно фагоцитов, способствует снижению барьерных свойств эпителиальных пластов и развитию каскада воспалительных реакций. Снижение количества CD163 клеток на поверхности эпителия можно связать с исчезновением их в эпителиальных пластах и выходом в собственную пластинку СОР или на её поверхность. Также наблюдается снижение количества CD4 и CD8 и их идентификация не в собственной пластинке, а в составе дифференсов эпителиального пласта. Анализ активности Ki67, выявил увеличение их количества. Результаты определения p53 и p63, а также и клетки с морфологическими признаками апоптоза в эпителиальной пластинке свидетельствуют о несоответствии барьерных функций эпителия и репаративной регенерации (Рисунок 21).

Изменение параметров ЛИГ СОР, индекса пролиферации у пациентов с сопутствующей патологией в различных возрастных группах позволили установить, что наиболее значимыми в диагностическом плане для прогнозирования остеоинтеграции при дентальной имплантации являются не только данные о содержании макрофагов, дендритных клеток и лимфоцитов, но и данные по активности генов p53, p63 и характеристика процесса апоптоза, который, в совокупности с пролиферативной активностью, отражает пластические и барьерные свойства кератиноцитов (Рисунок 22).

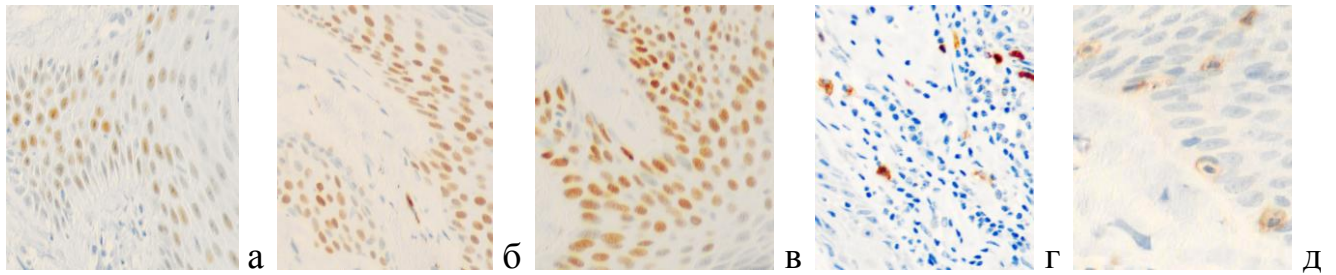


Рисунок 21 - Слизистая оболочка рта пациентов второй группы исследования после имплантации в динамике: а - p53 (I этап), б, в - p53 (II, III этап); г - Ki67, д - CD4. Иммуногистохимия. Микрофото. Ув. X200

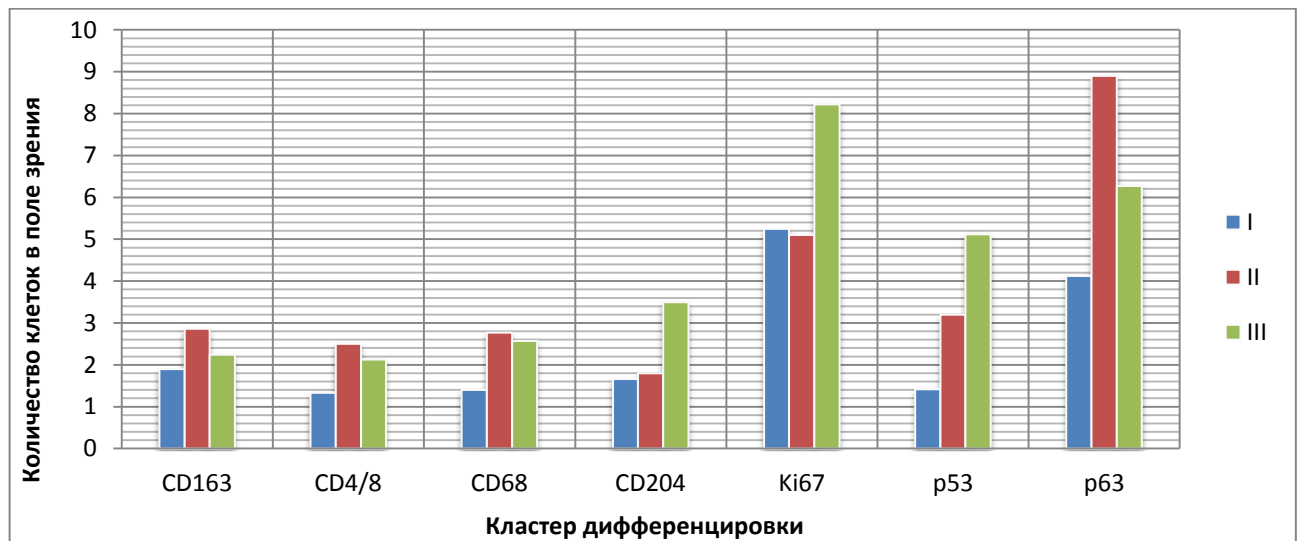


Рисунок 22 - Показатели локального иммунного гомеостаза и пластичности СОР в динамике процесса остеоинтеграции имплантатов у пациентов первой группы исследования: при хирургической санации полости рта (I), во время имплантации (II), в период установки формирователя десны (III)

При исследовании биопсийного материала пациентов с **верхнечелюстными синуситами** отмечены гипертрофия слизистой оболочки, атрофия и утрата ресничек однослойным многоядным эпителием, утолщение базальной мембраны, гиалиноз и склерозирование сосудов.

Иммуногистохимический метод позволил идентифицировать миграцию эффекторных иммунцитов в собственную пластинку, снижение барьерных свойств эпителиальной пластинки.

Отмечено, что среди методов иммуногистохимического исследования СОВЧС при патологическом процессе наиболее адекватным на современном этапе является соотношение маркеров CD4/CD8, которое возрастает в динамике синусита, но при продолжении процесса более 6 месяцев - уменьшается

количество CD4 клеток, одновременно возрастает CD8, как в эпителиальной пластинке, так и на поверхности СОВЧС (Рисунок 23, 24).

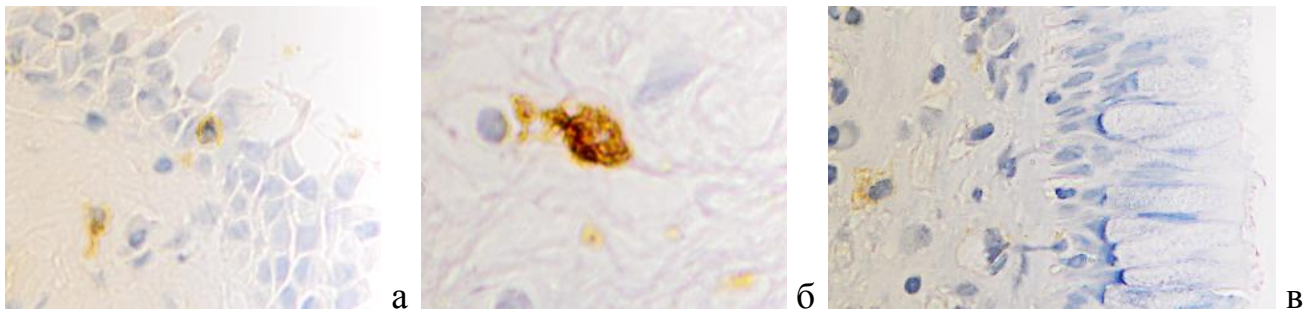


Рисунок 23 - Слизистая оболочка верхнечелюстного синуса человека. В норме (а) дендритные клетки выявляются и в эпителиальной пластинке, и в собственной пластинке слизистой оболочки. При одонтогенных синуситах дендритные клетки идентифицируются исключительно в собственной пластинке (б, в). Иммунная гистохимия. Микрофото. Ув.: а, в - X200; б - X 400

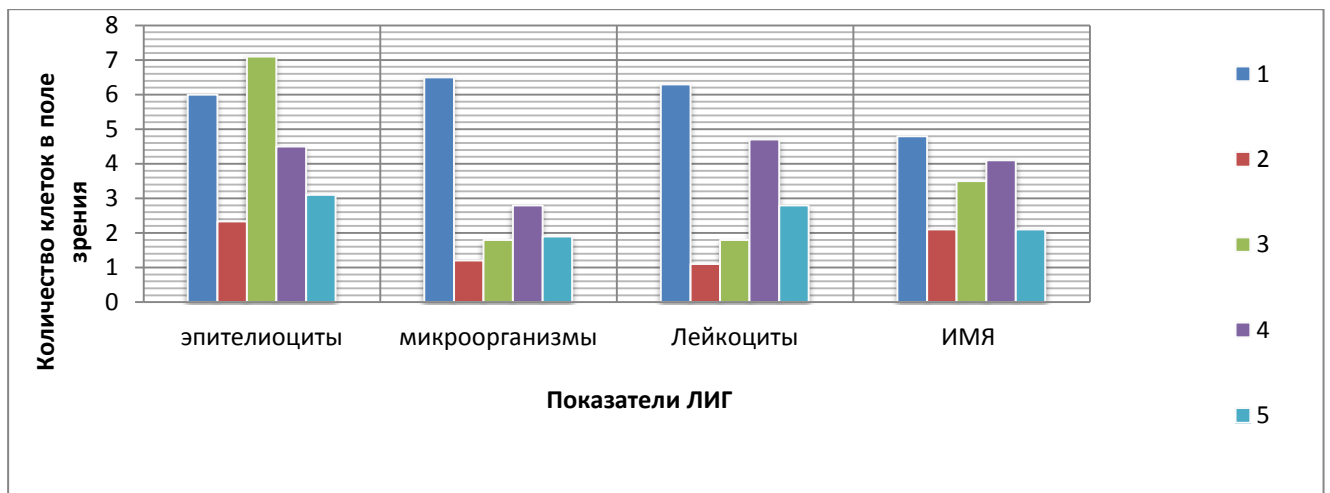


Рисунок 24 - Показатели локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки верхнечелюстного синуса при одонтогенном верхнечелюстном синусите на этапах дентальной имплантации

Количество CD4 превышает содержание CD8 во всех возрастных группах ($p < 0,05$). Повышение соотношения CD4/CD8 наблюдали в острой фазе воспалительного процесса. При хронизации воспаления происходит медленное снижение содержания Т-хелперов и рост количества Т-супрессоров.

Изменение соотношения CD4/CD8 в патогенезе синусита говорит о том, что эффекторные иммунocyты обеспечивают барьерную функцию покровной ткани в условиях гипер-, гипофункции и гибели эпителия. Синхронизация изменений

показателей в ЛИГ СОВЧС и клинической картины патологического процесса отражена на рисунке 25.

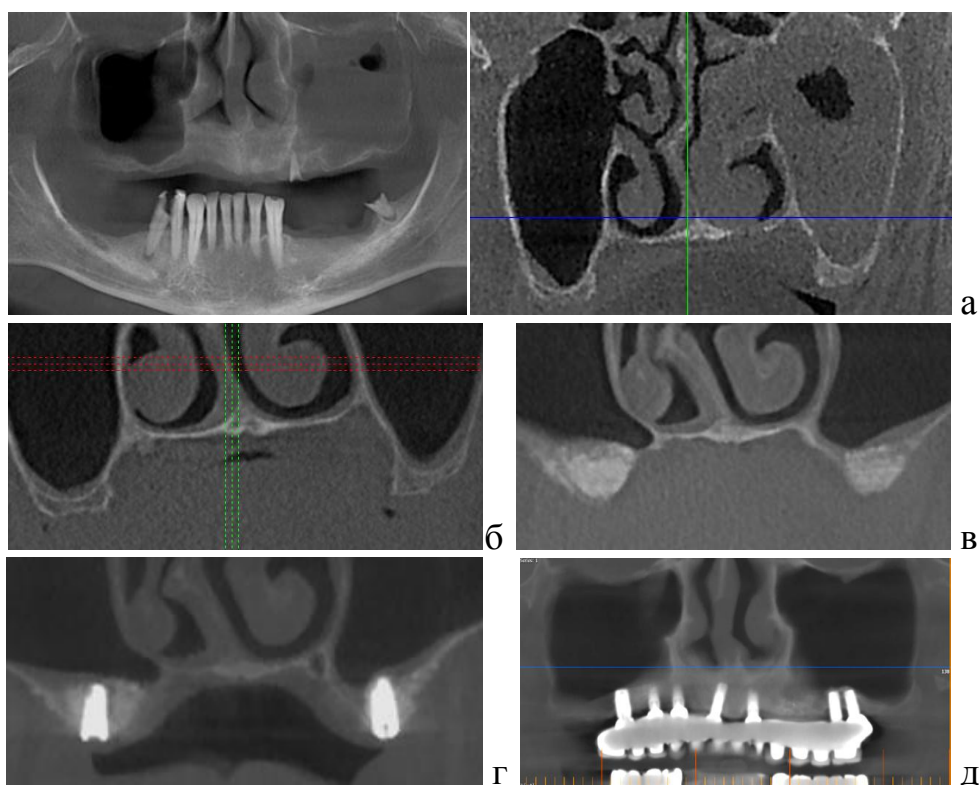


Рисунок 25 - Конусно-лучевая компьютерная томограмма челюстей пациента с левосторонним одонтогенным верхнечелюстным синуситом: а - на первом этапе исследования (показатели ЛИГ СОВЧС: CD4 – 3,21, CD8 – 3,52); б – на втором этапе исследования (показатели ЛИГ СОВЧС: CD4 – 1,59, CD8 – 0,98); в – на третьем этапе исследования (показатели ЛИГ СОВЧС: CD4 – 2,14, CD8 – 1,87); г – на четвертом этапе исследования (показатели ЛИГ СОВЧС: CD4 – 1,94, CD8 – 1,25); д – отдаленный результат – 6 лет после протезирования с опорой на дентальные имплантаты

Этот показатель является интегральным в отношении состояния иммунных процессов в СОВЧС и дает возможность судить о распространенности, тяжести и патогенетических особенностях воспалительного процесса и прогнозировать дальнейший исход заболевания.

Выводы:

1. На этапах дентальной имплантации и подготовки к ней у пациентов с дефектами зубных рядов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией наиболее информативными и чувствительными являются показатели

степени экспрессии CD68 и Ki67- позитивных клеток среди всех методов оценки иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта. Количество CD68 клеток достигает максимального значения, увеличиваясь на 176,1%, а количество Ki67 клеток снижается на 58,4%, достигая минимума в возрастной группе 40-59 лет на втором этапе исследования. При сопутствующей патологии наиболее информативна степень экспрессии p53, p63 позитивных клеток. У пациентов с сахарным диабетом второго типа количество p53 клеток достигает максимального значения, увеличиваясь в 5 раз по сравнению с данными пациентов без сопутствующей патологии на этапе хирургической санации полости рта, а количество p63 клеток минимально в подгруппе пациентов с посттравматическими дефектами челюстей.

2. Показатели локального иммунного гомеостаза и пролиферативной активности в слизистой оболочке рта пациентов в условиях интактных зубных рядов соответствуют убывающей динамике маркированных Ki67 клеток от ранней к средней и поздней взрослости (по Г. Крайгу) в значениях $5,51 \pm 0,07$; $4,79 \pm 0,02$ и $3,18 \pm 0,08$ соответственно. Количество CD68 позитивных клеток с возрастом изменяется от $1,10 \pm 0,043$, возрастая до $1,50 \pm 0,04$ в 40-59 лет, и уменьшается до уровня ниже исходного в возрастной группе поздней взрослости - $0,70 \pm 0,05$ ($p < 0,01$) , что обусловлено возрастным снижением регенераторного потенциала структур слизистой рта и управлением через антигенпрезентацию процессом удаления клеток, закончивших жизненный цикл. На основе анализа иммуногистохимических показателей возрастных изменений слизистой оболочки рта создана авторская модель локального иммунного гомеостаза в норме.

3. Анализ соотношения экспрессированных Ki67, p53, p63 и Tunel – позитивных клеток, характеризующих пластичность эпителиальной пластинки, позволяет выявить несоответствие физиологического запроса барьерных функций эпителия и репаративной регенерации на этапе хирургической санации полости рта, предшествующей дентальной имплантации. Показатели Ki67 позитивных клеток в слизистой оболочке рта у соматически здоровых пациентов с дефектами

зубных рядов на этапе хирургической санации полости рта, предшествующей дентальной имплантации от ранней к средней и поздней взрослости, составил: $6,29 \pm 0,07$; $5,31 \pm 0,04$ и $4,51 \pm 0,09$, соответственно, ($p < 0,01$), что отражает адекватное состояние слизистой оболочки рта до проведения хирургической санации полости рта, а изменение соотношения клеток, несущих маркеры Ki67/p53, отмечено у пациентов с сахарным диабетом второго типа: оно уменьшено более чем в 3 раза по сравнению с нормой.

4. В процессе остеоинтеграции дентальных имплантатов наиболее информативным методом оценки состояния микроциркуляторного русла является выявление локализации клеток с экспрессией CD34, позволяющее установить функционирующие и не функционирующие капилляры, что свидетельствует о реальных процессах трофического обеспечения и ангиогенном потенциале структур слизистой оболочки рта в условиях репаративной регенерации тканей. Количество CD34 клеток в возрастных группах по Г. Крэйгу составляет $1,08 \pm 0,07$; $1,69 \pm 0,03$ и $0,43 \pm 0,04$ ($p < 0,05$) с увеличением возраста, существенно уменьшается у пациентов с сопутствующей патологией, минимальное значение выявлено при сахарном диабете второго типа, начиная с этапа хирургической санации полости рта. В то же время увеличение, более чем в 4 раза по сравнению с исходным уровнем, отмечено у пациентов с посттравматическими дефектами челюстей в первой возрастной группе на первом этапе исследования, что свидетельствует об адекватном трофическом обеспечении зоны репаративной регенерации.

5. Локальный иммунный гомеостаз слизистой оболочки рта и верхнечелюстного синуса у пациентов с дефектами зубных рядов как соматически здоровых, так и с сопутствующей патологией имеет статистически значимые отличия по всем изученным иммуногистохимическим показателям на всех этапах остеоинтеграции дентальных имплантатов. У соматически здоровых пациентов показатели локального иммунного гомеостаза и пластичности слизистой оболочки рта в динамике процесса остеоинтеграции имплантатов во время имплантации и в период установки формирователя десны составили по CD68 позитивным клеткам $2,77 \pm 0,04$; $2,57 \pm 0,07$; а по Ki67 позитивным $5,1 \pm 0,04$;

8,22±0,07; p53: 3,2±0,03; 5,12±0,04 ($p<0,05$). На этапе активного регенераторного процесса нарастает антигенпрезентация, что связано с увеличением числа апоптозирующих клеток, чему соответствует адекватная пролиферация и высокий регенераторный потенциал.

6. У пациентов с сопутствующей патологией соотношение показателей митотической активности - Ki67 превалировало над показателями апоптоза - p53 и TUNEL – экспрессированных клеток, но на фоне снижения относительного количества p63 по сравнению с показателями соматически здоровых пациентов ($p<0,05$), что свидетельствует о понижении регенераторного потенциала и дифференцировки структур слизистой оболочки рта, ее атрофии и изменении барьерной функции эпителиальной пластинки. Только при множественной миеломе выход экспрессирующих CD68 клеток из эпителиальной в собственную соединительнотканную пластинку слизистой оболочки рта и их отсутствие в эпителиальной пластинке является показателем нарушения реституции эпителия, одним из основных признаков нарушения эпителиально-мезенхимальных взаимоотношений.

7. Значения экспрессии клеток, участвующих в обеспечении иммунного гомеостаза и пластичности эпителиальной ткани, выявленные с помощью иммуногистохимических методов, позволяют до появления клинических проявлений комплексно прогнозировать, выявлять и проводить профилактику возможных осложнений остеоинтеграции дентальных имплантатов, что свидетельствует о высокой диагностической ценности этого вида исследования.

8. Выявлена достоверная сильная прямая корреляционная зависимость ($r = 0,8$) между параметрами цитологических показателей, полученными методом фазово-контрастной микроскопии и изменениями локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта пациентов в возрастном аспекте, что позволяет использовать его, как наиболее эффективный метод экспресс-диагностики в период, предшествующий клиническим проявлениям, а цитологические признаки нарушения служат показанием к использованию

расширенного алгоритма обследования с иммуногистохимическим фенотипированием клеточных элементов.

Практические рекомендации

1. При составлении плана лечения пациентов с различными видами дефектов зубных рядов показана экспресс-диагностика состояния локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта с использованием фазово-контрастной микроскопии мазков-отпечатков.

2. В отсутствие клинических проявлений патологии слизистой оболочки рта, но при наличии цитологических признаков нарушения локального иммунного гомеостаза следует прибегнуть к биопсии слизистой оболочки рта с иммуногистохимическим фенотипированием для выявления индивидуального риска при дентальной имплантации. Метод фазово-контрастной микроскопии, позволяет оценить эффективность дентальной имплантации и проведение своевременных профилактических мероприятий в доклинический период нарушения остеоинтеграции дентальных имплантатов.

3. В течение 3 месяцев после имплантации в процессе остеоинтеграции происходит реакция между оксидом титана и губчатым слоем кости в виде диффузии – проникновения частиц одного вещества в межмолекулярное пространство другого. Только после этого срока оптимальнее нагружать имплантат в том случае, если в мазках с поверхности слизистой в зоне имплантации отсутствуют макрофаги и эпителиоциты с контаминацией наночастиц металлов.

4. У пациентов группы риска с развитием периимплантита, отторжения имплантатов реабилитация должна осуществляться с помощью методов иммуномоделирования репаративных процессов в СОР и сопровождения мониторингового наблюдения за состоянием локального иммунного гомеостаза.

5. Пациентам с изменениями показателей локального иммунного гомеостаза, соответствующих дисплазии костной ткани легкой и средней степени тяжести, показана предварительная терапевтическая и хирургическая подготовка

направленная на ликвидацию воспалительного процесса, при нормализации показателей возможно применение различных методов дентальной имплантации.

Перспектива дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования проблемы планирования и прогноза исходов дентальной имплантации у пациентов с различными видами сопутствующей патологии на основе показателей локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки рта и верхнечелюстного синуса заключается в определении и детализации механизмов патогенеза нарушения остеоинтеграции дентальных имплантатов и развития осложнений. Создание на основе полученных данных персонифицированных протоколов подготовки к дентальной имплантации, реабилитации в постоперационном периоде, контроля над проводимым лечением и профилактики возможных осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пахомов, О. В. Оптимизация хирургического лечения деструктивных заболеваний пародонта / О. В. Пахомов, В. Е. Толмачев, Н. А. Бобков // Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии : мат. науч. тр. конф., посвященной 75-летию со дня основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, 2004. – СПб., 2004. – С. 135–136.
2. Направленная тканевая регенерация в хирургии альвеолярных отростков / О. В. Пахомов, В. Е. Толмачев, Н. А. Бобков, А. П. Пешко // Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии: мат. науч. тр. конф., посвященной 75-летию со дня основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, 2004. – СПб., 2004. – С. 136–137.
3. Профилактика воспалительных осложнений при дентальной имплантации / С. П. Железный, С. Н. Носов, А. П. Пешко, А. Ф. Кортс, В. Е. Толмачев // Новые технологии в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / под общ. ред. В. К. Поленичкина, г. Новокузнецк, 5 мая 2006 г. – Новокузнецк, 2007. – С. 94–97.
4. Толмачев, В. Е. Осложнения и методы профилактики отторжений имплантатов / В. Е. Толмачев, А. П. Пешко, В. А. Вайлерт // Новые технологии в стоматологии. Челюстно-лицевая хирургия и стоматология: мат. Сибирского конгр. и Всерос. симпозиума, г. Новосибирск, 22-23 ноября 2006 г. – Новосибирск, 2006. – С. 145–154.

5. Комплексная профилактика периимплантитов при дентальной имплантации / *В. Е. Толмачев, П. А. Железный, А. П. Пешко [и др.]* // Сибирский консилиум. – 2006. – № 7. – С. 56–58.
6. Профилактика воспалительных осложнений при дентальной имплантации / *С. П. Железный, А. П. Пешко, С. Н. Носов, А. Ф. Кортс, В. Е. Толмачев* // Новые технологии в стоматологии. Челюстно-лицевая хирургия и стоматология: мат. Сибирского конгр. и Всерос. симпозиума, г. Новосибирск, 22-23 ноября 2006 г. – Новосибирск, 2006. – С. 124-125.
7. Комплексная коррекция воспалительных осложнений на этапах реабилитации пациентов после дентальной имплантации / *С. А. Епифанов, В. Е. Толмачев, О. Б. Витрик, А. П. Пешко [и др.]* // Челюстно-лицевая хирургия: мат. Второго Сибирского конгр.; Новые технологии в стоматологии : мат. Всерос. симп., г. Новосибирск, 13-16 февраля 2007 г. – Новосибирск, 2007. – С. 204–207.
8. Профилактика осложнений при дентальной имплантации / *В. Е. Толмачев, П. А. Железный, А. П. Пешко [и др.]* // Мат. XIX и XX Всерос. науч.-практ. конф., г. Москва, 22-24 апреля и 13 сентября 2008 г. – М., 2008. – С. 137–139.
9. Профилактика воспалительных осложнений при дентальной имплантации / *В. Е. Толмачев, С. П. Железный, А. П. Пешко [и др.]* // Нижегородский медицинский журнал. – 2008. – № 2, вып. 2. – С. 295–298.
10. Цитокиновый профиль смешанной слюны здоровых людей / *В. Е. Толмачев, Ю. В. Югай, Д. Б. Ларионова, А. А. Голицина* // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 47.
11. Медикаментозная профилактика периимплантитов // *В. Е. Толмачев, Ю. В. Югай, А. П. Пешко, А. А. Голицина* // Человек и лекарство: мат. VII Дальневосточного регион. конгр. с междунар. участием, г. Владивосток, 30 сентября - 1 октября 2010 г. / науч. ред. В. Б. Шуматов. – Владивосток, 2010. – С. 101–103.
12. Роль тучных клеток в системе местного иммунофагоцитарного звена пародонта у детей / *Г. В. Рева, Е. Ю. Русакова, В. Е. Толмачев [и др.]* // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5-1. – С. 105–109.
13. Клиническая оценка степени тяжести общего состояния больных с одонтогенными флегмонами / *О. Д. Шалабаев, К. З. Шалабаева, В. Е. Толмачев, М. А. Амхадова* // Российский стоматологический журнал. – 2012. – № 5. – С. 41–42.
14. Особенности исследования микроциркуляции пародонта при выраженной атрофии костной ткани челюстей / *Н. М. Мустафаев, М. А. Амхадова, В. Е. Толмачев* // Российский стоматологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 32–34.
15. Динамика летальности больных с тяжелым течением одонтогенных флегмон / *О. Д. Шалабаев, К. З. Шалабаева, В. Е. Толмачев, М. А. Амхадова* // Российский стоматологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 35.
16. *Толмачев, В. Е.* Иммунный гомеостаз слизистой оболочки десны в прогнозировании исходов протезирования у больных сахарным диабетом / *В. Е. Толмачев* // Аллергология и иммунология. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 95–96.

17. Особенности микроциркуляторного русла слизистой оболочки полости рта человека в онтогенезе / Ю. Ю. Первов, И. В. Рева, Е. Ю. Русакова, *В. Е. Толмачев* [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2012. – Т. 18, спец. вып. (№ S). – С. 26–27.

18. Иммунный гомеостаз слизистой оболочки десны в прогнозировании исходов дентальной имплантации у больных с заболеваниями пародонта / Г. В. Рева, *В. Е. Толмачев*, П. В. Разумов, Ю. В. Денисенко // *Челюстно-лицевая реконструктивная хирургия и имплантологическая реабилитация: тез. докл. науч.-практ. конф. с междунар. участием, г. Красногорск, 17-18 февраля 2012 г.* – Красногорск, 2012. – С. 43–44.

19. Оценка цитокинового профиля у пациентов до и после дентальной имплантации / Ю. В. Югай, *В. Е. Толмачев*, Е. В. Маркелова, А. А. Голицина // *Тихоокеанский медицинский журнал*. – 2013. – № 1. – С. 31–33.

20. Характеристика иммунного гомеостаза слизистой оболочки в зависимости от материалов ортопедических конструкций, опирающихся на дентальные имплантаты / Ю. Ю. Первов, М. З. Миргазизов, С. В. Игнатьев, В. С. Бочаров, *В. Е. Толмачев* // *Стоматология для всех*. – 2013. – № 3. – С. 8–12.

21. Опыт проведения дентальной имплантации у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта на фоне контроля местного иммунного гомеостаза / Г. В. Рева, *В. Е. Толмачев*, Ю. Ю. Первов [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 5-1. – С. 129–134.

22. Роль антигенпрезентирующих клеток CD68 в канцерогенезе HPV-ассоциированной этиологии / Г. В. Рева, И. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 12-2. – С. 306–313.

23. Анализ инфекционных концепций канцерогенеза / Г. В. Рева, И. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 2. – С. 194–207.

24. Анализ показателей матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов до и после дентальной имплантации / Ю. В. Югай, А. А. Голицына, *В. Е. Толмачев*, Е. В. Маркелова // *Тихоокеанский медицинский журнал*. – 2014. – № 3. – С. 65–67.

25. Клинико-экономическое обоснование регионарной лимфотропной антибиотикотерапии острого одонтогенного остеомиелита нижней челюсти у детей / Б. С. Жаналина, М. А. Амхадова, Н. С. Дрманов, И. С. Амхадов, *В. Е. Толмачев* // *Российский стоматологический журнал*. – 2014. – № 4. – С. 23–25.

26. Роль иммуноцитов слизистой оболочки в патогенезе верхнечелюстного синусита у больных старших возрастных групп / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* [и др.] // *Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии: мат. Всерос. Юбилейной науч.-практ. конф., посвященной 85-летию основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова, г. Санкт-Петербург, 25-26 ноября 2014 г.* / Главное Военно-медицинское управление МО РФ, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. – СПб., 2014. – С. 163–164.

27. Особенности иммунного гомеостаза слизистой оболочки десны у больных

на фоне миеломной болезни / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото, *В.Е. Толмачев* [и др.] // Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии : мат. Всерос. Юбилейной науч.-практ. конф., посвященной 85-летию основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, г. Санкт-Петербург, 25-26 ноября 2014 г. / Главное Военно-медицинское управление МО РФ, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. – СПб., 2014. – С. 164–165.

28. Механизмы канцерогенеза в коже человека на фоне папилломавирусной инфекции / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 5. – С. 648–655.

29. Регуляция пролиферативной активности эпителиев / Г. В. Рева, И. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4-2. – С. 343–346.

30. Характеристика иммуноцитов CD4/CD8 слизистой оболочки в патогенезе одонтогенного верхнечелюстного синусита / Г. В. Рева, И. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-1. – С. 160–165.

31. Патогенетические аспекты остеонекроза челюстей при миеломной болезни / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото, В. В. Усов, Е. Ю. Русакова, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12-4. – С. 345–351.

32. Потенциальные прогностические факторы в канцерогенезе / И. В. Рева, Т. Ямамото, Г. В. Рева, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12-5. – С. 517–521.

33. Апоптоз в канцерогенезе / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 2. – С. 103–110.

34. Механизмы остеонекроза челюстей при миеломной болезни / И. В. Рева, Г. В. Рева, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 67.

35. Взаимодействие эффекторных иммуноцитов слизистой оболочки рта в условиях протезирования ортопедическими конструкциями, содержащими белое золото / А. Р. Ким, И. В. Рева, В. С. Бочаров, *В. Е. Толмачев* [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – С. 179.

36. Реакция слизистой оболочки полости рта на ортопедические конструкции из сплавов, содержащих никель / И. В. Рева, А. Р. Ким, В. С. Бочаров, *В. Е. Толмачев*, Г. В. Рева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – С. 64.

37. Клиническая морфология слизистой оболочки рта в динамике дентальной имплантации: монография / *В. Е. Толмачев*, Г. В. Рева, Т. Ямамото, И. В. Рева; под ред. А. А. Кулакова. – Владивосток: Дальнаука, 2017. – 208 с.

38. Анализ цитокинового статуса при травматических повреждениях нижней челюсти и их осложнениях / Е. В. Попова, М. Н. Тарасов, Е. А.

Чагина, В. Е. Толмачев // Цитокины и воспаление. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 55–57.

39. Морфология слизистой оболочки рта в динамике дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Г. В. Рева, В. Е. Толмачев, И. О. Калинин, Ю. А. Красников [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 1. – С. 60.

40. Фенотипирование иммунцитов слизистой оболочки рта в динамике дентальной имплантации / Г. В. Рева, В. Е. Толмачев, А. А. Кулаков, И. О. Калинин // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 2. – С. 54.

41. Characteristics of the immune homeostasis of human oral mucosa in the age aspects / V. E. Tolmachev, E. Y. Rusakova, P. V. Rasumov [et al.] // Moderne aspecte der prophylaxe, behandlung und rehabilitation: Internationaler Kongress; Euromedica-Hannover-2013: Fachmesse. – Hannover (Germany), 2013. – P. 214–215.

42. Change of immune homeostasis of mucous membranes of the oral cavity during implantation, are complicated by infection / V. E. Tolmachev, V. Olesova, M. Amchadova [et al.] // Infection diseases (New aspects of epidemiology, pathogenesis, Treatment, Prevention. Japan-Russia International Workshop 2013 (JRIW2013); Probiotics and health: 4-th Russia-Japan forum, Tokyo-Kioto, oct. 26-31, 2013 / ISTC. – Tokyo-Kioto (Japan), 2013. – P. 54–55.

43. Prospects of dental implantation at patient with insular diabetes / P. Razumov, V. E. Tolmachev, E. Rusakova, G. Reva // Infection diseases: new aspects of epidemiology, pathogenesis, treatment, prevention: Japan-Russia International Workshop 2013 (JRIW 2013), Tokyo, 26 October, 2013. – Tokyo (Japan), 2013. – P. 60–61.

44. Reva, G. V. Futures immune homeostasis of oral mucosa / G. V. Reva, V. E. Tolmachev, I. V. Reva // Moderne aspecte der prophylaxe, behandlung und rehabilitation: Internationaler Kongress; Euromedica-Hannover-2014: Fachmesse. – Hannover (Germany), 2014. – P. 145–146.

45. Angiogenesis mucous proximal gastrointestinal tract in myeloma / I. V. Reva, T. Yamamoto, G. V. Reva, O. B. Kalinin, I. O. Kalinin, V. E. Tolmachev, T. N. Obidennicova // Moderne aspecte der prophylaxe, behandlung und rehabilitation: International Conference; Euromedica-Hannover-2014: Fachmesse. – Hannover (Germany), 2014. – P. 146–148.

46. The role of immune cells in carcinogenesis of HPV associated etiology / I. V. Reva, T. Yamamoto, V. E. Tolmachev, G. V. Reva // Moderne aspecte der prophylaxe, behandlung und rehabilitation : Internationaler Kongress; Euromedica-Hannover-2014: Fachmesse. – Hannover (Germany), 2014. – P. 25–27.

47. Especially angiogenesis mucous proximal gastrointestinal tract in pathology / I. V. Reva, G. V. Reva, O. B. Kalinin, I. O. Kalinin, A. R. Kim, V. V. Bocharov, P. V. Razumov, V. E. Tolmachev // Moderne aspecte der prophylaxe, behandlung und rehabilitation: Internationaler Kongress; Euromedica-Hannover-2016: Fachmesse-2016. – Hannover (Germany), 2016. – P. 64–65.

48. The role of papillomavirus infection for cancerogenesis in older patients / G. V.

Reva, M. V. Danilenko, N. V. Grakchova, O. V. Girya, M. E. Schmelev, D. E. Shakchov, V. E. Tolmachev, I. V. Reva // *Socially Significant Human Diseases. Medical, environmental and technical problems and their solutions: III Japanese-Russian International Conference (III JRIC SSD-2016) : Fachmesse-2016.* – Obihiro (Japan), 2016. – P. 92–93.

49. Angiogenesis mucous proximal gastrointestinal tract in mieloma olderpatients / I. V. Reva, O. B. Kalinin, I. O. Kalinin, A. R. Kim, V. V. Bocharov, P. V. Razumov V. E. Tolmachev, G.V. Reva // *Socially Significant Human Diseases. Medical, environmental and technical problems and their solutions: III Japanese-Russian International Conference (III JRIC SSD-2016): Fachmesse-2016.* – Obihiro (Japan), 2016. – P. 88–89.

50. **Oncopathology in the oil and gas industry in Russia in the Far North and other regions of world / V. N. Bagryantsev, I. V. Reva, I. A. Odintsova, O. Yu Girya, N. V. Kotsar, M. V. Indik, V. E. Tolmachev [et al.] // Archiv EuroMedica.** – 2017. – Vol. 7, № 2, Pt. 1. – P. 8–9.

51. **Features of medical care in the conditions of oil exploration and production in the extreme North / A. N. Gulkov, I. V. Reva, V. N. Bagryantsev, I. A. Odintsova, M. V. Danilenko, S. N. Baldaev, M. V. Indik, V. E. Tolmachev, G. V. Reva // Archiv EuroMedica.** – 2017. – Vol. 7, № 2, Pt. 1. – P. 33–35.

52. **The concept of carcinogenesis in viral contamination / I. V. Reva, V. E. Tolmachev [et al.] // Archiv EuroMedica.** – 2017. – Vol. 7, № 2, Pt. 2. – P. 71–74.

53. **Analysis of causative factors and cytokine status in traumatic injuries of the lower jaw and complications thereof / E. V. Markelova, E.V. Popova, V. E. Tolmachev, A. V. Karaulov // Revista Publicando.** – 2018. – Vol. 5, № 15 (I). – P. 355–366.

54. **Tolmachev, V. E. Optimization of surgical treatment in dental implantation in difficult anatomical conditions with reconstructive interventions / V. E. Tolmachev // Archiv EuroMedica.** – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 128–130.

Изобретения РФ по теме диссертации

1. Пат. RU 2652966C1. МПК А61F9/007, А61F9/00. Способ хирургического лечения посттравматического энтофтальма / Одинцова И. А., Пешко А. П., Кулаков А. А., Альбрандт К. Ф., Рева Г. В., Бржеский В. В., Рева И. В., Толмачев В. Е. ; заявитель и патентообладатель ФГА ОУ ВО «ДВФУ» (RU). – № 2017120054 ; заявл. 08.06.2017; опубл. 03.05.2018. – Бюл. № 13. – 10 с.

2. Пат. RU 2653804C1 RU, МПК А61F9/00, А61F9/007. Способ хирургического лечения посттравматического энтофтальма / Толмачев В. Е., Рева И. В., Рева Г. В., Кулаков А. А., Пешко А. П., Одинцова И. А., Альбрандт К. Ф.; заявитель и патентообладатель ФГА ОУ ВО «ДВФУ» (RU). – № 2017120053 ; заявл. 08.06.2017 ; опубл. 14.05.2018. – Бюл. № 14. – 6 с.