

О.С. Барило, Т.М. Канішина, Т.Р. Закалата

Особливості регенерації тканин у лунці видаленого зуба у хворих на цукровий діабет

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна

Резюме. Одним з основних патогенетичних факторів сповільненої регенерації тканин при цукровому діабеті вважаються зміни судин мікроциркулярного русла, що розвиваються в ході хвороби, та повільне і нерегульоване утворення нових капілярів (ангіогенез). Ангіогенез – це один з фізіологічних процесів, який відіграє ключову роль у реакції тканин на пошкодження.

Мета: за допомогою морфологічних досліджень провести аналіз регенераторних процесів у тканинах альвеолярного відростка після видалення зуба у хворих на цукровий діабет, оцінити процеси фізіологічного ангіогенезу при утворенні грануляційної тканини.

Матеріали та методи. У 20 пацієнтів із цукровим діабетом II типу віком від 40 до 60 років обох статей, після видалення зуба була проведена біопсія грануляційної тканини, що заповнювала лунку зуба, через сім днів після видалення зуба. У 10-ти хворих (які склали контрольну групу) після видалення зуба в лунці формувалася кров'яний згорткок, загоювання лунки проходило самостійно. У інших 10-ти хворих (вони склали дослідну групу) в лунку поміщали PRF і фіксували його п-подібним швом. Були виготовлені гістологічні препарати, проведено фарбування гістологічних препаратів гематоксилін-еозином і на фібрин за Зербіно Д.Д., Лукасевич Л.Л. (модифікований метод Martius-Scarlet-Blue). Мікроскопію та фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа «OlympusBX41» при збільшенні в 40, 100, 200, 400 та 1000 разів.

Результати. У препаратах дослідної групи кількість новоутворених капілярів та ендотеліоцитів більша. У препаратах контрольної групи зустрічається невелика кількість меншого діаметра новоутворених судин. Це підтверджується результатами морфометрії. Діаметр судин у дослідній групі складав $18,48 \pm 0,67$ мкм, їх відносна площа – $14,8 \pm 0,51$ %, у контрольній відповідно $11,68 \pm 0,24$ мкм та $9,04 \pm 0,21$ %.

Висновок. Структурні та функціональні зміни судин мікроциркуляторного русла є одним з найбільш важливих факторів, які зумовлюють повільне загоювання ран у хворих на цукровий діабет. Таким чином, майбутні лікувальні підходи до стимуляції ангіогенезу, васкуляризації, цільове транспортування факторів росту до місця пошкодження відкривають нові можливості для прискорення загоювання ран (у тому числі постекстракційних ран) у хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: цукровий діабет, регенерація, лунка зуба, ангіогенез.

Вступ

Згідно з даними ВООЗ, Міжнародної діабетичної федерації (IDF) та Європейської асоціації з вивчення цукрового діабету (EASD), щорічно зростає кількість хворих на цю хворобу. В Україні зареєстровано 1,2 млн хворих на цукровий діабет, причому 85–90 % у структурі захворюваності складає ЦД II типу, і в основному це люди працездатного віку (40–59 років). За даними 2015 року, частка хворих на цукровий діабет серед усього населення області склала 3 %, аналогічний показник і в цілому по Україні. У той же час рівень інтенсивності та поширеності основних стоматологічних захворювань в Україні залишається високим, незважаючи на те, що можливості лікування і профілактики карієсу з кожним роком збільшуються. Підтвердженням цього стали результати вивчення стоматологічного статусу хворих на цукровий діабет другого типу віком від 40 до 60 років, в яких поширеність карієсу сягнула 100 %, а інтенсивність карієсу за індексом КПВз була високою [1]. Таким чином, хворим із цукровим діабетом досить часто проводиться видалення зубів. І слід зауважити, що ця операція, як і будь-яке інше хірургічне втручання, у хворих на цукровий діабет потребує особливого підходу та спостереження за загоюванням постекстракційної рани, адже існує проблема повільної регенерації пошкоджених тканин. Одним з основних патогенетичних факторів сповільненої регенерації тканин при цукровому діабеті вважаються зміни судин мікроциркулярного русла, що розвиваються в ході хвороби, та повільне й нерегульоване утворення нових капілярів (ангіогенез). Ангіогенез – це один з фізіологічних процесів, який відіграє ключову роль у реакції тканин на пошкодження. При відновленні пошкоджених тканин різко зростає потреба в метаболізмі поживних речовин у цій зоні. Різноманітні клітини, біологічно активні речовини, структури матриксу, мікроелементи треба швидко доставити до всіх точок поранення. Такий метаболізм забезпечується кровотоком у новоутворених

кровоносних судинах. Порушення ангіогенної відповіді негативно впливає на перебіг загоювання ран.

Мета – за допомогою морфологічних досліджень провести аналіз регенераторних процесів у тканинах альвеолярного відростка після видалення зуба у хворих із цукровим діабетом, оцінити процеси фізіологічного ангіогенезу при утворенні грануляційної тканини з використанням PRF і без нього.

Матеріали та методи

Були відібрані 20 пацієнтів із цукровим діабетом II типу віком від 40 до 60 років обох статей, які потребували операції видалення зуба. Хворі добровільно давали згоду на проведення операції та проведення біопсії грануляційної тканини, що заповнювала лунку зуба, через сім днів після видалення зуба. У 10-ти хворих (які склали контрольну групу) після видалення зуба в лунці формувалася кров'яний згорткок, загоювання лунки проходило самостійно. В інших 10-ти хворих (вони склали дослідну групу) в лунку поміщали PRF і фіксували його п-подібним швом. Фібрин, збагачений тромбоцитами, виготовляли безпосередньо перед видаленням зуба. Для цього з ліктьової вени хворого забирали 10 мл венозної крові. Венопункція проводилася за допомогою голки-метелика, з'єднаної катетером з вакуумною пробіркою, стінки якої покриті активатором згортання. Отриману кров центрифугували 12 хвилин зі швидкістю 3000 об./хв. Кров у пробірці розподілялась на три шари: верхній – плазма з дефіцитом тромбоцитів, середній – фібриновий згорткок, збагачений тромбоцитами, нижній шар – згорткок червоних кров'яних тілець.

Фібриновий згорткок виймали із пробірки пінцетом, скальпелем відрізували червоні кров'яні тілця та переміщали в рану. Через один день (у половини хворих) і через сім днів (у другій половини хворих) після видалення зуба проводилася біопсія тканин, що заповнювали лунку зуба, для морфологічного та морфометричного дослідження.

Використовувалася техніка біопсії, описана Melvin H. Amler у 1960 році [2], з використанням інфільтраційної анестезії розчином лідокаїну 2 %. З отриманих у результаті біопсії тканин за стандартними методиками були виготовлені гістологічні препарати, проведено фарбування гістологічних препаратів гематоксилін-еозином і на фібрин за Зербіно Д.Д., Лукасевич Л.Л. (модифікований метод Martius-Scarlet-Blue) [3]. Мікроскопію та фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа «Olympus BX41» при збільшенні в 40, 100, 200, 400 та 1000 разів. Проведено морфометричне дослідження за допомогою методик, описаних в посібнику Автанділова Г.Г. [4], досліджено такі морфометричні показники грануляційної тканини зубної лунки, як кількість судин в 1 мм², діаметр судин грануляційної тканини.

Результати та їх обговорення

Аналіз регенераторних процесів у тканинах альвеолярного відростка після видалення зуба можна провести, оцінивши результати морфологічних досліджень. У препаратах контрольної групи без лікування через одну добу вміст лунки складав кров'яний згорткок. При мікроскопічному аналізі виявлено, що кров'яний згорткок складається з великої кількості еритроцитів, що розміщені в петлях фібрину. Серед клітин зустрічаються поодинокі лейкоцити (рис. 1-а).

При забарвленні препаратів на фібрин за Зербіно Д.Д., Лукасевич Л.Л. (модифікований метод Martius-Scarlet-Blue) зрілий фібрин набуває синій колір (рис. 1-б).

При мікроскопічному вивченні тканин дослідної групи через одну добу виявлено, що в лунці зуба зберігається велика кількість зрілого фібрину (рис. 2-а). Кількість фібрину значно більше, ніж у препаратах першої групи. Нитки цього білка утворюють густу сітку, що покриває все поле зору, препарати відрізняються меншою кількістю еритроцитів.

У складі PRF у лунку видаленого зуба транспортуються тромбоцити (кров'яні тільця) та велика кількість білка фібрину. Тромбоцити являються природним джерелом факторів росту, у тому числі таких, як VEGF, EGF, PDGF. Ці біоактивні речовини здатні стимулювати проліферацію ендотеліоцитів і таким чином прискорювати ангиогенез [5].

На 7-й день спостереження у препаратах спостерігаються фібробласти, вони розміщуються групами, утворюють пучки, з'являються одиничні фіброцити. Формується грануляційна тканина. Фібрин у препаратах відсутній. З'являються волокна колагену. Іде новоутворення капілярів. Стінка капіляра утворюється ендотеліоцитами [6]. Кількість ендотеліоцитів, що утворюють стінку капіляра, різна – від одного до п'яти. У препаратах дослідної групи кількість новоутворених капілярів та ендотеліоцитів більше (рис. 3-а, 3-б). У препаратах контрольної групи зустрічається невелика кількість меншого діаметру новоутворених судин (рис. 4-а, 4-б, отже, ангиогенез

нез іде менш активно. Це підтверджується результатами морфометрії. Діаметр судин у дослідній групі складав $18,48 \pm 0,67$ мкм, їх відносна площа – $14,8 \pm 0,51$ %, у контрольній відповідно $11,68 \pm 0,24$ мкм та $9,04 \pm 0,21$ %.

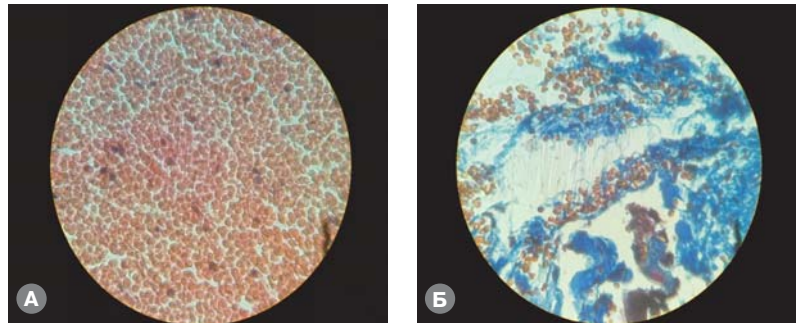


Рис. 1. А – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 400, контрольна група. Б – забарвлення на фібрин за Зербіно Д.Д., Лукасевич Л.Л. (модифікований метод Martius-Scarlet-Blue), зб. 400, контрольна група.

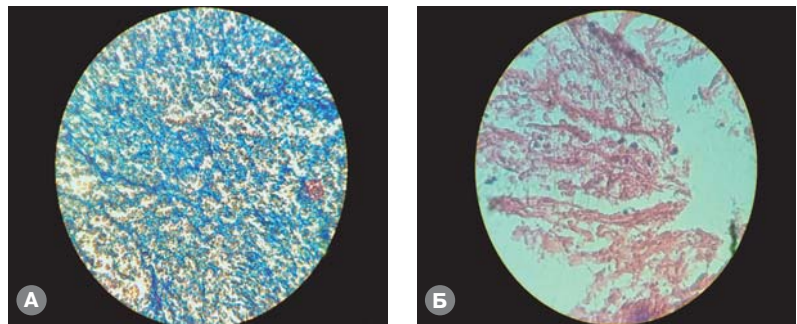


Рис. 2. А – забарвлення на фібрин за Зербіно Д.Д., Лукасевич Л.Л. (модифікований метод Martius-Scarlet-Blue), зб. 200, дослідна група; Б – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 400, дослідна група.

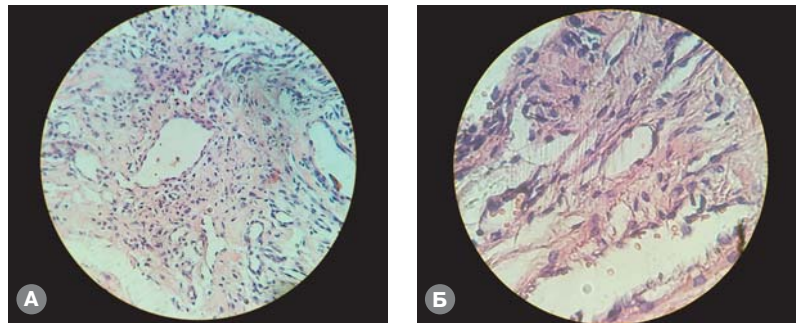


Рис. 3. А – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 400, дослідна група; Б – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 1000, дослідна група.

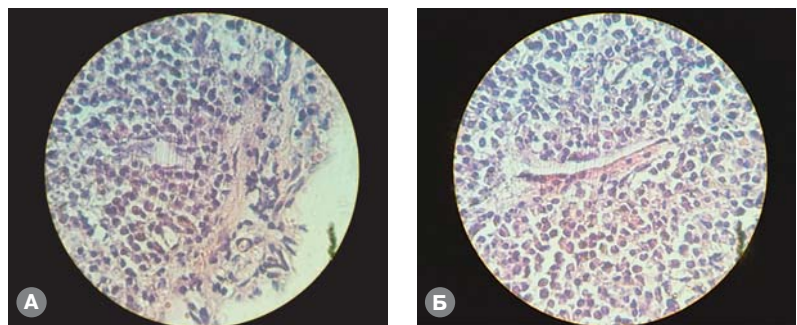


Рис. 4. А – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 400, контрольна група; Б – забарвлення гематоксилін-еозин, зб. 400, контрольна група.

Висновок

У хворих на цукровий діабет розвиваються різноманітні структурні та функціональні порушення кровоносних судин, а саме – зменшення розмірів капілярів, потовщення базальної мембрани, гіаліноз артеріол, структурні зміни в ендотеліальних клітинах. Потовщення базальної мембрани ускладнює фізіологічний обмін рідин і клітинну міграцію, а також знижує здатність протистояти інфекціям. У сукупності такі структурні та функціональні зміни судин мікроциркулярного русла є

одним з найбільш важливих факторів, які зумовлюють повільне загоювання ран у хворих на цукровий діабет. Усі поранення у таких хворих, навіть поверхневі, шкіри та слизових оболонок стають тривалою проблемою й потребують лікування. Таким чином, майбутні лікувальні підходи до стимуляції ангиогенезу, васкуляризації, цільове транспортування факторів росту до місця пошкодження відкривають нові можливості для прискорення загоювання ран (у тому числі постекстракційних ран) у хворих на цукровий діабет.

ЛІТЕРАТУРА

1. Н.Б. Кузняк, О.І. Годованець. Стоматологічний статус дітей із супутньою соматичною патологією // Буковинський медичний вісник. – Том 14, № 1 (53), 2010, с. 40–45.
2. Melvin H. Amler. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. The journal of the american dental association. – Vol. 61, July 1960, p. 38–52.
3. Методики морфологічних досліджень: монографія / Багрій М.М., Діброва В.А., Попадинець О.Г., Гришук М.І.; під ред. М.М. Багрія, В.А. Діброва. – Вінниця: Нова Книга, 2016. – 150 с.
4. Автандилов Г.Г. Основы патологоанатомической практики. Руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Российская медицинская академия последипломного образования. – 2001. – С. 475–480.
5. Джіано Річчі. Диагностика и лечение заболеваний пародонта / Джіано Річчі, Марио Айметти. – Москва: Издательский дом «Азбука», 2015. – 539–551 с.
6. Oral wound healing: cell biology and clinical management / Edited by Hannu Larjava. – 2012. J. Wiley & Sons, Inc. p. 76–98.

Особенности регенерации тканей в лунке удаленного зуба у больных сахарным диабетом

А.С. Барило, Т.Н. Канишина, Т.Р. Закалата

Цель: с помощью морфологического исследования проанализировать регенераторные процессы в тканях альвеолярного отростка после удаления зуба у больных сахарным диабетом, оценить процессы физиологического ангиогенеза при образовании грануляционной ткани.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 20 больных сахарным диабетом II типа возрастом 40–60 лет обоих полов. Все больные дали согласие на проведение биопсии грануляционной ткани в лунке удаленного зуба через семь дней после удаления. В контрольной группе больных заживление лунки проходило самостоятельно, больным опытной группы в лунку фиксировали PRF. Были изготовлены гистологические препараты и окрашены гематоксилин-еозином и по методу Зербино Д.Д., Лукаевич Л.Л. (модифицированный метод Martius-Scarlet-Blue). Микроскопию и фотографирование гистологических препаратов проводили с помощью светового микроскопа «Olympus BX41» при увеличении в 40, 100, 200, 400 и 1000 раз.

Результаты. В препаратах опытной группы большее количество новообразованных капилляров и эндотелиоцитов. Это подтверждается результатами морфометрии. Диаметр сосудов в опытной группе составлял $18,48 \pm 0,67$ мкм, их относительная площадь – $14,8 \pm 0,51$ %, а в контрольной группе соответственно $11,68 \pm 0,24$ мкм и $9,04 \pm 0,21$ %.

Вывод. Структурные и функциональные изменения сосудов микроциркулярного русла являются одним из важных факторов, приводящих к медленному заживлению ран у больных сахарным диабетом. Поэтому лечебные подходы для стимуляции ангиогенеза, васкуляризации, целевая транспортировка фактора роста в место повреждения открывают новые возможности для ускорения заживления ран (в том числе постэкстракционных ран) у больных сахарным диабетом.

Ключевые слова: регенерация, лунка зуба, ангиогенез, сахарный диабет.

Special aspects of tissues regeneration in alveolar socket in diabetes patients

O. Barylo, T. Kanishyna, T. Zakalata

Resume. One of the main pathogenetic factors of slowed tissue regeneration in diabetes mellitus is the changes in the microcirculatory vessels that develop during the disease, and the slow and unregulated formation of new capillaries (angiogenesis). Angiogenesis is one of the physiological processes that plays a key role in the tissue's response to damage.

Summary. Angiogenesis is among the most fundamental of physiological processes and is central to how tissues respond to injury. It is well established that an aberrant angiogenic response contributes to the pathogenesis of a number of diseases and can dramatically influence the course of wound healing.

Purpose. With the help of morphological studies, to analyze the regenerative processes in the tissues of the alveolar sprout after tooth extraction in patients with diabetes mellitus, to evaluate the processes of physiological angiogenesis in the formation of granulation tissue.

Materials and methods. In 20 patients with type 2 diabetes mellitus aged 40 to 60 years in both sexes, after the tooth was removed, a biopsy of the granulation tissue filling the tooth was performed 7 days after the tooth extraction. In 10 patients (who made the control group) after the tooth was removed, a blood clot was formed in the well. Healing of the well passed independently. The other 10 patients (they formed a test group) placed in the well PRF and fixed it with a p-like seam. Histological preparations were made by methods, staining of histological preparations with hematoxylin-eosin and on fibrin by Zerbino D.D., Lukasevich L.L. (modified Martius-Scarlet-Blue method). Microscopy and photographing of histological preparations were performed using an optical microscope Olympus BX41 with an increase of 40, 100, 200, 400 and 1000 times.

Results. In the preparations of the experimental group, the number of newly formed capillaries and the number of endothelial cells is greater. In the preparations of the control group there is a small amount of smaller diameter of the newly formed vessels, therefore, the angiogenesis goes less active. This is confirmed by the results of morphometry. The diameter of vessels in the experimental group was 18.48 ± 0.67 μ m, their relative area – 14.8 ± 0.51 %, in the control, respectively, 11.68 ± 0.24 μ m, and 9.04 ± 0.21 %. In the microscopic study of granulation tissue revealed differences in its structure between the control and experimental groups.

Conclusion. Structural and functional changes of the vessels of the microcirculatory bed are one of the most important factors that determine the slow healing of wounds in patients with diabetes mellitus. Thus, future therapeutic approaches to stimulation of angiogenesis, vasculature, targeted transportation of growth factors to the site of injury provide new opportunities for accelerating the healing of wounds (including post-extraction wounds) in patients with diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, regeneration, tooth arch, angiogenesis, alveolar socket.

О.С. Барило – д-р мед. наук доцент кафедри хірургічної стоматології ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Т.М. Канишина – аспірант кафедри хірургічної стоматології ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Т.Р. Закалата – канд. мед. наук, доцент кафедри стоматології дитячого віку ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Тел.: (067) 493-12-59. E-mail: kanyshyna@gmail.com.