

DOI: 10.26693/jmbs03.01.026

УДК 616.716.8:616.379-008.64-036.12-092.9

Германчук С. М.

ЗМІНИ В АЛЬВЕОЛЯРНОМУ ВІДРОСТКУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ФАЗІ МОДЕЛЬОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (ТЕРМІНОМ 2 МІСЯЦІ)

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Київ, Україна

Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет», Київ, Україна

dr.hermanchuk@kmu.edu.ua

У розвитку патологічних станів ротової порожнини важливу роль відіграють захворювання ендокринної системи, зокрема цукровий діабет. Діабет спричиняє порушення всіх видів обміну речовин і, як наслідок, поразка тканин пародонта. Висока частота уражень органів порожнини рота при цукровому діабеті обумовлена змінами мікросудинної системи, резорбцією кісткової тканини, зниженням місцевих імунних реакцій, що призводить до зниження витривалості пародонту. Метою нашого дослідження є дослідити патогенетичну залежність патології ендокринної системи зі морфологічними змінами в альвеолярному відростку і змінами в показниках кальцій фосфорного обміну. Порівняльний аналіз отриманих результатів морфобіохімічних показників сироватки крові щурів та змін кісткової тканини альвеолярного відростку, з'ясовано, що при хронічній стадії модельованого цукрового діабету змінюється кількісний склад лужної загальної та кісткової фосфатази, кальцію та фосфору. При дослідженні альвеолярного відростку в хронічній стадії модельованого цукрового діабету виявлені зміни, що свідчать про резорбцію кісткової тканини і прогресуванню патологічних змін в тканинах пародонта.

Ключові слова: цукровий діабет, пародонт, кістка.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукове дослідження проведено в рамках виконання фрагменту НДР кафедри ортопедичної стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика – «Сучасні методи реабілітації стоматологічних хворих із застосуванням ортопедичних конструкцій» (№ держ. реєстрації 0117U002587), та кафедри ортопедичної стоматології та ортодонції ПВНЗ «Київський медичний університет» «Підвищення ефективності ортопедичного і ортодонтичного лікування хворих з дефектами зубів, зубних рядів, аномаліями та деформаціями зубощелепного апарату» (№ держ. реєстрації 0206U011147).

Вступ. Для визначення найбільш раціональної конструкції для ортопедичного стоматологічного лікування пацієнтів з ЦД актуальними є вивчення клінічних особливостей тканин порожнини рота за розвитку діабетичної пародонтопатії. Майже в 100% випадків у хворих на ЦД спостерігаються запальні захворювання пародонту різного ступеню тяжкості, які відрізняються вираженою клінічною картиною, агресивним перебігом, стійкістю до традиційних методів лікування і профілактики [1, 2, 3]. Стан гігієни порожнини рота у пацієнтів з ЦД в 2,5 рази гірший, ніж у здорових осіб. Для таких пацієнтів характерні подовжені строки загоєння ран після видалення зубів та виконання інших хірургічних втручань, особливо погіршуються процеси регенерації тканин [4, 5].

При наданні стоматологічної допомоги хворим на ЦД слід враховувати, що захворювання зубощелепного апарату можуть мати специфічний перебіг унаслідок метаболічних порушень і системної ангіопатії. Так, вважається, що діабетична пародонтопатія є наслідком ангіопатії, частота яких при ЦД досягає 68–91,3%. Судинна концепція хронічного пародонтиту сформульована ще в минулому столітті. Судинно-нервовий фактор (порушення васкуляризації та іннервації слизової оболонки ясен) створює основу патогенезу діабетичних пародонтопатій [6]. Пусковим моментом діабетичних мікроангіопатій є порушення вуглеводного обміну, а також порушення обміну глікозамінів, що визначають функціональну і структурну цілісність базальної мембрани судин [7].

Відомо, що гемомікроциркуляторне русло пародонту є активною зоною гемодинаміки організму, тому судини пародонту вражаються раніше і частіше, ніж судини інших органів [8, 9]. Виражені клінічні симптоми захворювань пародонту при ЦД, особливо в період декомпенсації захворювання, фахівці пояснюють порушеннями обмінних процесів і інтоксикацією організму, зміною судинної проникності, при яких переважно відбувається рух рідини і білків

в напрямку з крові в тканини. У пацієнтів з ЦД зменшується стійкість стінок капілярних судин ПР, інтенсивність змін при цьому залежить від давності захворювання, тобто, на думку більшості авторів, патологія пародонту при ЦД є локальним проявом діабетичної мікроангіопатії [10, 11]. Як відмічають Л. В. Балахонов та співавт. (2006), у СОПР при ЦД 1 і 2 типів розвиваються виражені зміни мікросудин і порушення гемодинаміки, значна дистрофія і атрофія епітеліоцитів за відсутності запально-клітинної інфільтрації або при її факультативному характері. Морфогенез патологічних змін представляється як первинна діабетична мікроангіопатія, що обумовлює метаболічні порушення з розвитком дистрофічних і атрофічних змін усіх структурних компонентів СОПР і розвитком діабетичної пародонтопатії, що є первинно дистрофічним процесом [12]. Базальний шар капілярів найчастіше потовщений і розшарується на окремі анастомозувальні смужки, по периферії його речовина без чітких меж перетворюється в пластівчастий матеріал, подібний плазмі крові. У просвіті більшості капілярів спостерігаються сладж-феномен і гемолізовані еритроцити, а у просвіті венул – тромбоцитарно-фібринові обтуривальні мікротромби [13]. Таким чином, мікроангіопатії при ЦД призводять до посилення резорбтивних процесів у кістковій тканині, а потовщення базальної мембрани мікросудин утрудняє надходження мікроелементів та дифузю кисню у тканини пародонта, що на тлі існуючих метаболічних порушень ще більше пригнічує репаративні процеси у альвеолярній кістці та СО [14].

За висновками І. Є. Герасимюк та М. М. Якимець (2010), вже на ранніх стадіях експериментальної гіперглікемії на тлі порушення обмінних процесів у дрібних артеріях і артеріолах виникають реакції констрикторного типу, направлені на попередження гемодинамічного переважання гемомікроциркуляторного русла при реактивній артеріальній гіперперфузії, що підтверджується розширенням просвіту артерій більшого калібру [15]. У віддалені терміни зниження пропускної здатності артерій всіх калібрів за рахунок гіпертонусу с потовщенням м'язової оболонки і звуженням просвіту, а також гіперплазії гладком'язових клітин косо- і косоповерхової орієнтації з формуванням подушок Ебнера призводить до порушення кровопостачання з розвитком дистрофічних змін у тканинах пародонту, атрофії слизової оболонки, склерозу стінок судин. Наслідком структурної реорганізації судинних стінок можуть бути вогнищеві крововиливи, а також явища запального характеру як прояв зниження місцевого імунітету внаслідок порушення кровопостачання [15].

Мета роботи. Дослідити патогенетичну залежність патології ендокринної системи зі морфологіч-

ними змінами у альвеолярному відростку і змінами в показниках кальцій фосфорного обміну.

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проводили на білих лабораторних щурах масою 160–180 г, яких утримували на стандартному раціоні за умов віварію. Тваринам дослідної групи, що налічувала 6 особин моделювали діабет. Для відтворення моделі діабету тваринам внутрішньо-очеревинно однократно вводили стрептозоцин у дозі 60 мг/кг маси тіла, розведений на 10Мм цитратному буфері (рН 4,5). Потім тварин витримували до розвитку діабету, контролювали рівень глюкози у крові за допомогою системи глюкометру OnCallPlus виробництва ACON Laboratories, Inc, USA. Щурі контрольної групи (6 тварин) утримували за стандартних умов. Тварин з дослідної та контрольної груп вилучили з експерименту через 60 днів після початку.

Матеріалом досліджень були нижні щелепи, які отримували під час забою тварин контрольної і дослідної груп. Досліджувані зразки тканин фіксували у нейтральному формаліні (рН 7,4) для зберігання максимального прижиттєвого стану 18 год. Після фіксації проводили декальцинацію у ЕДТА 17% рН 7,4. Після фіксації та декальцинації виготовляли парафінові зрізи 3–5 мкм завтовшки за методом Сант-Марі, депарафінували за стандартною методикою з подальшим промиванням у PBS (рН 7,4). В подальшому фарбували гематоксилін-еозином.

При визначенні кількості остеоцитів та остеокластів, проводився підрахунок в п'яти полях зору одного зразка і вираховувалось середнє значення.

Дослідження сироватки крові щурів проводилось за стандартними методиками визначення кальцію, фосфору, загальної та кісткової лужної фосфатази.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Статистична обробка проводилась у програмі «Статистика 8.0». Достовірність результатів оцінювалась за критерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати світлооптичного дослідження кісткової тканини контрольної і дослідної групи щурів зображені на **рис. 1** та **рис. 2**.

На дослідних зразках фрагменти губчастої кістки з фіброзно-жировою тканиною у міжтрабекулярному просторі. Наявні помірно-виражені ознаки резорбтивних змін: явища остеокластичної резорбції («гаушипові» лакуни) по периферії трабекул;

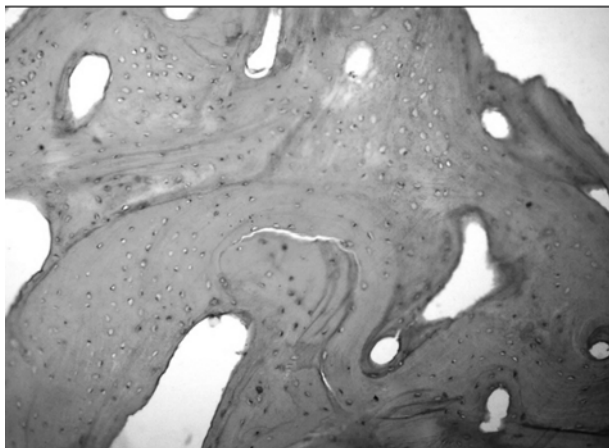


Рис. 1. Кісткова тканина контрольної групи тварин збільшення: об'єктив 10 камера 5 МП



Рис. 2. Кісткова тканина експериментальної групи тварин об'єктив 20 камера 5 МП

незначна периоциотарна та периканалікулярна резорбція. Базофільні лінії мають різний ступінь виразності на всьому протязі препарату. У лакунах наявні пікнотичні ядра остеоцитів. Кісткові балки фрагментовані (може бути пов'язано з приготуванням препаратів), більшість з них витончена, фестончаста. Розташована у між балкових проміжках сполучна тканина має різний ступінь васкуляризації. Ділянки фіброзної тканини чергуються з вогнищами жирової тканини. У фіброзній тканині наявні дрібні фрагменти кісткової тканини: може бути пов'язано з її вираженою атрофією (остеолізом) або навпаки з початком десмального остеогенезу з формуванням грубоволокнистої кісткової тканини.

На експериментальному препараті фрагменти губчастої кісткової тканини. Краї трабекул рівні. Розташування ліній склеювання, кісткових пластин та оциотарних лакун правильне, синхронне. Більшість лакун (оциотарних) позбавлені оциотів, в окремих з них виявляються різко апоптозовані клітини з гіперхромними пікнотичними ядрами. На окремих ділянках препарату у міжтрабекулярних просторах залишки гемо поетичної тканини.

Результати дослідження клітинного складу альвеолярного відростку наведено в **табл. 1**.

Порівняльний аналіз наведених результатів показав значне, статистично достовірне, зменшення кількості оциотів і достовірне збільшення

Таблиця 1 – Клітинний склад альвеолярного відростку на моделі стрептозотоцинового діабету (M ± m, n = 25) через 2 місяці

Показники	Експериментальні групи	
	Контроль	Діабет
Кількість остеокластів	1,0±0,6	3,5±0,1*
Кількість оциотів	28,3±2,7	21±2,6*

Примітка: *P=0,05.

остеокластів майже в три рази в порівнянні з контрольною групою.

Результати дослідження сироватки крові щурів наведено в **табл. 2**.

Аналізуючи отримані результати морфобіохімічних показників сироватки крові щурів та змін кісткової тканини альвеолярного відростку, з'ясовано, що при хронічній стадії модельованого цукрового діабету змінюється кількісний склад лужної загальної та кісткової фосфатази, кальцію та фосфору. Вірогідне збільшення загальної лужної фосфатази свідчить про наявність біохімічних змін у кістковій тканині. Також виявлене достовірне збільшення рівня фосфору. Як вже було згадано раніше, підвищений рівень лужної фосфатази частково може бути пов'язаний зі змінами у гепатоцитах під час модельованого цукрового діабету, що додатково кумулює альтеративну дію на кісткову тканину.

Тому враховуючи вищезазначене лужна фосфатаза може слугувати маркером раннього виявлення патології кісткової системи та тканин пародонту у людей з цукровим діабетом та застосовується для скринінгових досліджень стоматологічних хворих.

Таблиця 2 – Біохімічні показники сироватки крові щурів-самців на моделі стрептозотоцинового діабету (M ± m, n = 5) через 1 місяць

Показники	Експериментальні групи	
	Контроль	Діабет
Лужна фосфатаза (загальна) (МО/л)	236,9 ± 16,8	323,8 ± 23,8 *
Лужна фосфатаза (кісткова) (МО/л)	128,3 ± 22,3	209,7 ± 32,1
Кальцій (мг/дл)	12,16 ± 0,15	12,33 ± 0,56
Фосфор (мг/дл)	9,17 ± 0,38	13,78 ± 1,42 *

Примітка: * – вірогідні зміни порівняно з контрольною групою.

Висновки та перспективи подальших досліджень. При дослідженні альвеолярного відростку в хронічній стадії модельованого цукрового діабету виявлені зміни, що свідчать про резорбцію кісткової тканини, що сприяє виснаженню адапта-

ційних можливостей і прогресуванню захворювань тканин пародонта. Вищенаведене обумовлює подальше дослідження змін в альвеолярному відростку при модельованому цукрового діабеті.

References

1. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent*. 2008 Sep; 29 (7): 402-8, 410, 412-3. PMID: 18795634.
2. Altamash M, Arledal S, Klinge B, Engström PE. Pre-diabetes and diabetes: Medical risk factors and periodontal conditions. *Acta Odontol Scand*. 2013 Nov; 71 (6): 1625-31. PMID: 23586625. doi: 10.3109/00016357.2013.788207.
3. Santacroce L, Carlaio RG, Bottalico L. Does it make sense that diabetes is reciprocally associated with periodontal disease? *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2010 Mar; 10 (1): 57-70. PMID: 20001897.
4. Trentin MS, Verardi G, De C Ferreira M, De Carli JP, Da Silva SO, Lima IF, et al. Most frequent oral lesions in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Contemp Dent Pract*. 2017 Feb 1; 18 (2): 107-11. PMID: 28174362.
5. Buyschaert M, Tshongo Muhindo C, Alexopoulou O, Rahelic D, Reychler H, Preumont V. Oral hygiene behaviours and tooth-loss assessment in patients with diabetes: A report from a diabetology centre in Belgium. *Diabetes Metab*. 2017 Jun; 43 (3): 272-4. PMID: 27692742. doi: 10.1016/j.diabet.2016.08.003.
6. Yuldashev KYu. *Naruszenie mikrotsirkulyatsii u bolnykh sakharnym diabetom i puti ikh korektsii*. Tashkent: Meditsina, 1982. 247 s. [Russian]
7. Belgov AYU. Khronicheskie oslozhneniya sakharnogo diabeta. Chast 1. Sosudistye oslozhneniya sakharnogo diabeta. *Novye Sankt-Peterburg vracheb vedomosti*. 2013; 63 (1): 13-20. [Russian].
8. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Jun 28; 7 (12): 738-48. PMID: 21709707. doi: 10.1038/nrendo.2011.106.
9. Galagidina AA. Patogenez diabeticheskikh angiopatiy ta rol ostannikh u porushenni morfofunktionalnogo stanu slizovoy obolonki rotovoy porozhnini. *Klinich ta eksperim patologiya*. 2015; 14 (3): 190-5. [Ukrainian].
10. Bascones-Martinez A, González-Febles J, Sanz-Esporrín J. Diabetes and periodontal disease. Review of the literature. *Am J Dent*. 2014 Apr; 27 (2): 63-7. PMID: 25000662.
11. Negrato CA, Tarzia O, Jovanović L, Chinellato LE. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci*. 2013 Jan-Feb; 21 (1): 1-12. PMID: PMC3881811. doi: 10.1590/1678-7757201302106.
12. Balakhonov LV, Nepomnyashchikh L.M, Aydagulova SV, Bakarev MA, Vlasova LF. Strukturnye reaktsii slizistoy obolochki polosti rta pri diabeticheskoy parodontopatii. *Byul eksperim biologii i meditsiny*. 2006; 142 (11): 581-4. [Russian].
13. Nitta H, Katagiri S, Nagasawa T, Izumi Y, Ishikawa I, Izumiyama H, et al. The number of microvascular complications is associated with an increased risk for severity of periodontitis in type 2 diabetes patients: Results of a multicenter hospital-based cross-sectional study. *J Diabetes Investig*. 2017 Sep; 8 (5): 677-86. PMID: 28129466. PMID: PMC5583958. doi: 10.1111/jdi.12633.
14. Minhazov HH, Fayzullina DB, Aminova ET. Sostoyanie sistemy hemostaza pri parodontite u bolnykh insulinzavisimym sakharnym diabetom kak kriteriy tyazhesti techeniya zabolevaniya i effektivnosti lecheniya. *Stomatologiya*. 2001; 80 (1): 77-9. [Russian].
15. Herasimiyuk IYe, Yakimets MM. Osoblivosti strukturnoi perebudovi sudin ta m'yakikh tkanin parodonta v dinamitsi eksperimentalnogo modelyuvannya streptozototsinovoho tsukrovoho diabeta. *Visn nauk doslidzhen*. 2010; 4: 122-5. [Ukrainian].

УДК 616.716.8:616.379-008.64-036.12-092.9

ИЗМЕНЕНИЯ В АЛЬВЕОЛЯРНОМ ОТРОСТКЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗЕ МОДЕЛИРУЕМОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА (СРОКОМ 2 МЕСЯЦА)

Германчук С. М.

Резюме. В развитии патологических состояний ротовой полости важную роль играют заболевания эндокринной системы, в частности сахарный диабет. Диабет к нарушению всех видов обмена веществ и, как следствие, поражение тканей пародонта. Высокая частота поражений органов полости рта при сахарном диабете обусловлена изменениями микрососудистой системы, резорбцией костной ткани, снижением местных иммунных реакций, что приводит к снижению выносливости пародонта. Целью нашего исследования является исследовать патогенетическую зависимость патологии эндокринной системы с морфологическими изменениями в альвеолярном отростке и изменениями в показателях кальций фосфорного обмена. Сравнительный анализ полученных результатов морфобиохимических показателей сыворотки крови крыс и изменений костной ткани альвеолярного отростка показал, что при хронической стадии моделируемого сахарного диабета меняется количественный состав щелочной общей и костной фосфатазы, кальция и фосфора. При исследовании альвеолярного отростка в хронической стадии моделируемого сахарного диабета выявлены изменения, свидетельствующие о резорбции костной ткани и прогрессировании патологических изменений в тканях пародонта.

Ключевые слова: сахарный диабет, пародонт, кость.

UDC 616.716.8:616.379-008.64-036.12-092.9

Changes in the Alveolar Sprout in the Chronic Phase of Simulated Diabetes Mellitus (for a period of 2 months)

Hermanchuk S.

Abstract. To determine the most rational design for orthopedic stomatological treatment of patients with diabetes, it is important to study the clinical features of oral tissues in the development of diabetic periodontal disease. Inflammatory diseases of a periodontal disease of varying severity in almost 100% patients with diabetes are characterized by a marked clinical picture, aggressive course, resistance to traditional methods of treatment and prevention. When rendering dental care to patients with diabetes, it should be taken into account that diseases of the zeb joint can have a specific course due to metabolic disorders and systemic angiopathy. Thus, it is believed that diabetic periodontal disease is the result of angiopathy, the frequency of which at CD reaches 68–91.3%. Vascular concept of chronic periodontitis was formulated in the last century. The vascular-nervous factor (violation of vascularization and innervation of the gum mucosa) forms the basis for the pathogenesis of diabetic periodontal disease.

The purpose of the study is to research the pathogenetic dependence of the pathology of the endocrine system with morphological changes in alveolar sprouts and changes in calcium indices of phosphorus metabolism.

Materials and methods. The experiment was conducted on white laboratory rats weighing 160–180 g kept on a standard diet under vivarium conditions. Animals of the experimental group, numbering 6 individuals, modeled diabetes. In order to reproduce the diabetes mellitus, intraperitoneally, streptozotocin was administered once in a dose of 60 mg / kg body weight, diluted in 10 MM citrate buffer (pH 4.5). The animals then survived the development of diabetes, monitored blood glucose levels using the OnCallPlus glucometer system from ACON Laboratories, Inc., USA. Rats of the control group (6 animals) were kept under standard conditions. Animals from the experimental and control groups were removed from the experiment 60 days after the start.

Materials of the research were the lower jaw obtained during the slaughter of animals of the control and experimental groups. The investigated tissue samples were fixed in neutral formalin (pH 7.4) to store the maximum life-time of 18 hours. After fixation, decalcification was performed at EDTA of 17% pH 7.4. After fixing and decalcification, paraffin sections were made of 3-5 μ m Sant Marie thick, deparaffined according to a standard procedure, followed by washing in PBS (pH 7.4). Subsequently, hematoxylin-eosin was stained.

In determining the number of osteocytes and osteoclasts, the count was made in five fields of view of one sample and the average value was calculated.

Research of blood serum of rats was carried out according to standard methods for determination of calcium, phosphorus, total and bone alkaline phosphatase.

Statistical processing was carried out in the program "Statistics 8.0". The reliability of the results was evaluated according to Student's criterion.

Results and discussion. We examined experimental samples fragments of gabbro bone with fibrous-fatty tissue in the intertrabecular space. There were moderate-pronounced signs of resorptive changes: the phenomenon of osteoclastic resorption ("gaushyip" gaps) along the periphery of trabeculae; insignificant perioscyclic and pericancellary resorption. Basophile lines had varying degrees of severity throughout the drug. In the gaps, there were picnotypes of osteocytes. Bone beams are fragmented (maybe due to the preparation of drugs), most of them are elegant, festonic. Located between the beam gaps, the connective tissue has a different degree of vascularization. The areas of fibrous tissue alternate with the foci of adipose tissue. In the fibrous tissue there were small fragments of bone tissue: it may be due to its severe atrophy (osteolysis) or vice versa with the onset of desmal osteogenesis with the formation of coarse fibrous bone tissue.

Analyzing the obtained results of morphobiochemical indices of blood serum of rats and changes in bone tissue of alveolar sprout, it was found out that in the chronic stage of simulated diabetes, the quantitative composition of alkaline general and bone phosphatase, calcium and phosphorus changed. A probable increase in total alkaline phosphatase indicated the presence of biochemical changes in bone tissue. There was also a significant increase in phosphorus levels. As it was mentioned before, elevated levels of alkaline phosphatase may be partially associated with changes in hepatocytes during simulated diabetes mellitus, which further binds to an alternative effect on bone tissue.

Conclusions. We identified changes indicating resorption of bone tissue, in the study of alveolar sprouts in the chronic stage of simulated diabetes. This can contribute to the depletion of adaptive capacity and progression of periodontal tissue diseases. The foregoing determines the further study of changes in alveolar sprouts in simulated diabetes mellitus.

Keywords: diabetes mellitus, periodontal disease, bone.

Стаття надійшла 19.11.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування