

DOI: 10.26693/jmbs03.02.021

УДК 616.716.8-092:616.379-008.64-036.12-092.9

Германчук С. М.

ЗМІНИ В АЛЬВЕОЛЯРНОМУ ПАРОСТКУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ФАЗІ МОДЕЛЬОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (ТЕРМІНОМ З МІСЯЦІ)

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

Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет», Україна

dr.hermanchuk@kmu.edu.ua

На тлі цукрового діабету відбувається порушення всіх видів обміну речовин, що призводить до комплексних змін тканинного метаболізму і проявляється розвитком діабетичних мікро- і макроангіопатій. До основних механізмів асоційованих з діабетом уражень пародонту відносяться: васкулярні розлади, мікробіологічні розлади, порушення метаболізму колагену. Тому метою нашого дослідження є вивчити патогенетичну залежність патології ендокринної системи зі морфологічними змінами у альвеолярному паростку і змінами в показниках кальцій фосфорного обміну.

Порівняльний аналіз клітинного складу альвеолярного паростку показав значне, статистично достовірне, зменшення кількості остеоцитів і достовірне збільшення остеокластів майже в два рази в порівнянні з контрольною групою. Проаналізувавши отримані результати морфобіохімічних показників сироватки крові щурів та змін кісткової тканини альвеолярного паростку, 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 остеокластичної резорбції та/або навпаки явищами початкового десмального остеогенезу з сформованою грубоволокнистою кістковою тканиною. Таким чином, при дослідженні альвеолярного паростку в хронічній стадії модельованого цукрового діабету виявлені зміни, що свідчать про резорбцію кісткової тканини, яка сприяє фіброзному перетворенню, котра в свою чергу знижує адаптаційні сили пародонта.

Ключові слова: цукровий діабет, пародонт, кістка.

Зв'язок з науковими планами, роботами, темами. Наукове дослідження проведено в рамках виконання фрагменту НДР кафедри ортопедичної стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика «Сучасні методи реабілітації стоматологічних хво-

рих із застосуванням ортопедичних конструкцій» (№ держ. реєстрації 0117 U002587); 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. Захворювання на цукровий діабет займає одне з провідних положень в Світі. Оскільки дана хвороба є наслідком дефіциту інсуліну та тягне за собою порушення обміну всіх видів речовин, то це призводить до ураження різних органів і систем та, в першу чергу, судинного русла. Ураження судин дрібного калібру виникає швидше та частіше, ніж великих. Саме тому стан тканин пародонта є показником перших змін під час порушень регуляції метаболічних процесів з боку ендокринної системи [1].

Висока частота уражень органів порожнини рота (до 90%) при ЦД обумовлена змінами мікросудинної системи, резорбцією кісткової тканини, зниженням місцевих імунних реакцій, що призводить до зниження витривалості пародонта, при цьому звичайне жувальне навантаження стає для опорних зубів травматичним. У той же час у хворих з пародонтитом в 10% випадків виявляється ЦД [2]. В. А. Mirza співавт. (2010) відмічають, що більшість лікарів-стоматологів бачать зв'язок між ендокринними захворюваннями і станом порожнини рота, визнаючи, що наявність ЦД обтяжує перебіг стоматологічної патології. При цьому 36% лікарів вважають, що і стоматологічна патологія погіршує перебіг ЦД, наголошуючи на існуванні двонаправленого зв'язку між захворюваннями [3].

Показники стану пародонта у пацієнтів з ЦД суттєво залежать від ступеня компенсації вуглеводного обміну. Компенсована форма супроводжується генералізованим пародонтитом середнього ступеня важкості у 83%, у 16% виявляється генералізований пародонтит важкого ступеня. При

субкомпенсованій та декомпенсованій формах ЦД – 84% пацієнтів мають тяжку форму генералізованого пародонтиту [4].

Зміни тканин пародонту при наявності цукрового діабету вважають локальним проявом діабетичної мікроангіопатії. У випадку ендокринних порушень мікроангіопатії є наслідком гіалінозу судин [5]. Стінки судин зазнають клітинних змін та змін власне волокнистої структури з наступним просяканням білками плазми. Так, під час порушення вуглеводного обміну в організмі, бета-ліпопротеїди виводяться через мікроциркуляторне русло та осідають на судинах. При цукровому діабеті утворюється власне ліпогіалін [6]. При імуногістохімічному дослідженні в ньому виявляють фібрин, білки плазми, імуноглобуліни, ліпіди [7]. Гіалін нагромаджується в субендотеліальному просторі, руйнуючи базальну мембрану, судинна оболонка потоншується та відбувається звуження просвіту судини [8].

Відомо, що гемомікроциркуляторне русло пародонту є активною зоною гемодинаміки організму, тому судини пародонту вражаються раніше і частіше, ніж судини інших органів [9, 10]. 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 [11, 12].

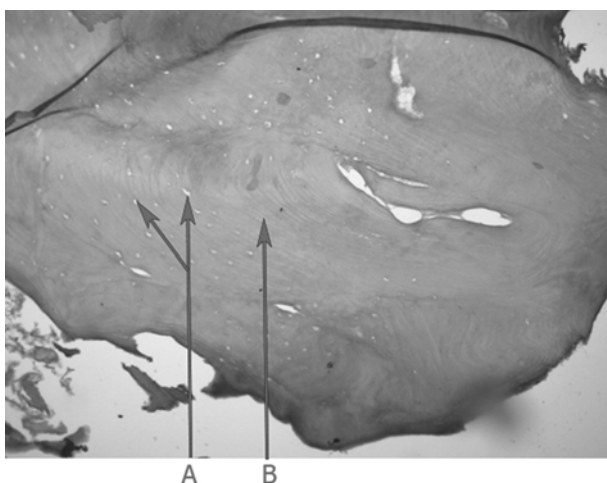


Рис. 1. Кісткова тканина контрольної групи тварин збільшення: об'єктив 10 камера 5 МП. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – Остеоцити, В – кісткові каналці

Встановлено, що під час огляду лікарем-стоматологом осіб з різним ступенем захворюваності на цукровий діабет, парадонтопатії спостерігаються у кожного обстежуваного. На початковій стадії при зниженні резистентності організму спостерігається втрата епітеліального прикріплення, катаральне запалення, порушення імунного бар'єру [13]. На пізніх стадіях, що обумовлені порушенням окислювально-відновних процесів, діагностують трофічні розлади та лізис кісткової тканини [14].

Для визначення найбільш раціональної конструкції для ортопедичного стоматологічного лікування пацієнтів з ЦД актуальними є вивчення клінічних особливостей тканин порожнини рота за розвитку діабетичної парадонтопатії. Як було показано, 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 [15, 16, 17]. 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 [18, 19].

Мета дослідження. Дослідити патогенетичну залежність патології ендокринної системи зі морфологічними змінами у альвеолярному паростку 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,

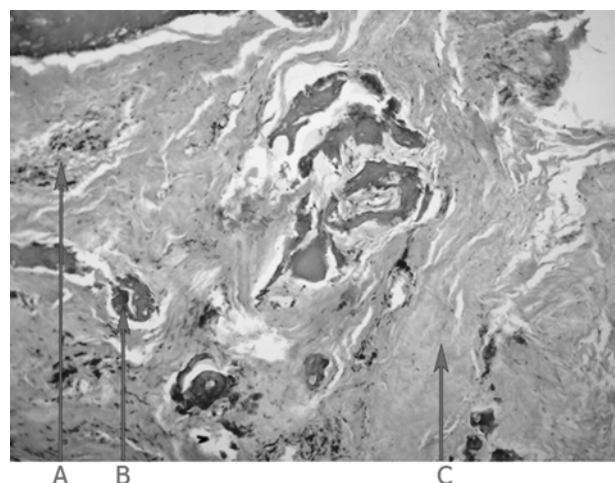


Рис. 2. Кісткова тканина експериментальної групи тварин об'єктив 10 камера 5 МП. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – Ділянки набряку сполучної тканини, В – Залишки кісткової тканини з остеолізом, С – Сформована грубоволокниста сполучна тканина

що налічувала 6 особин моделювали діабет. Для відтворення моделі діабету тваринам внутрішньо-очередово одночасно вводили стрептозотцин 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 глюкометра OnCall-Plus виробництва ACON Laboratories, Inc, USA. Щурі контрольної групи (6 тварин) утримували за стандартних умов. Тварин з дослідної та контрольної груп вилучили з експерименту через 90 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 і їх обговорення. Результати світлооптичного дослідження кісткової тканини контрольної і дослідної групи щурів зображені на **рис. 1, 2**.

Фрагменти губчастої кістки з фіброзно-жировою тканиною у міжтрабекулярному просторі. Наявні помірно-виражені ознаки резорптивних змін: явища остеокластичної резорбції («гаушипові» лакуни) по периферії трабекул; незначна периостіоцитарна 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. Роз-

Таблиця 1 – Клітинний склад альвеолярного паростку на моделі стрептозотоцинового діабету ($M \pm m$, $n = 25$) через 3 місяці

Показники	Експериментальні групи	
	Контроль	Діабет
Кількість остеокластів	1,5±0,4	3,1±0,4*
Кількість остеоцитів	24,7±6,8	19±3,2*

Примітка: *P=0,05.

ташована 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.

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

Порівняльний аналіз наведених результатів показав значне, статистично достовірне, зменшення кількості остеоцитів і достовірне збільшення остеокластів майже в два рази в порівнянні з контрольною групою.

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

Проаналізувавши отримані результати морфобіохімічних показників сироватки крові щурів та змін кісткової тканини альвеолярного паростку, з'ясовано, що при хронічній стадії модельованого цукрового діабету змінюється кількісний склад лужної загальної та кісткової фосфатази, кальцію та фосфору. Так показники загальної лужної фосфатази експериментальної групи збільшилися до 304,9 ± 20,1 МО/л (контрольна група 229,2 ± 23,0 МО/л), також збільшилися показники кісткової лужної фосфатази до 207,5 ± 17,1 МО/л в порівнянні з контрольною групою 134,8 ± 6,3 МО/л. Вірогідно збільшилась концентрація кальцію і фосфору сироватки крові щурів експериментальної групи до 13,47 ± 0,4 мг/дл 12,96 ± 1,03 мг/дл відповідно. Вірогідне збільшення

Таблиця 2 – Біохімічні показники сироватки крові щурів-самців на моделі стрептозотоцинового діабету ($M \pm m$, $n = 5$) через 3 місяці

Показники	Експериментальні групи	
	Контроль	Діабет
Лужна фосфатаза (загальна) (МО/л)	229,2 ± 23,0	304,9 ± 20,1 *
Лужна фосфатаза (кісткова) (МО/л)	134,8 ± 6,3	207,5 ± 17,1 *
Кальцій (мг/дл)	11,69 ± 0,17	13,47 ± 0,4 *
Фосфор (мг/дл)	10,12 ± 0,45	12,96 ± 1,03 *

Примітка: * – вірогідні зміни порівняно з контрольною групою.

загальної лужної фосфатази свідчить про наявність остеокластичної резорбції та/або навпаки явищами початкового десмального остеогенезу з сформованою грубоволокнистою кістковою тканиною.

Висновки. При дослідженні альвеолярного паростку в хронічній стадії модельованого цукрового діабету виявлені зміни, що свідчать про резорб-

цію кісткової тканини, яка сприяє фіброзному перетворенню котра в свою чергу знижує адаптаційні сили пародонта.

Перспективи подальших досліджень. Перспектива подальших досліджень полягає в подальшому поглибленому вивченню на молекулярному рівні змін в альвеолярному паростку при модельованому цукрового діабеті.

References

1. World Health Organization. The top 10 causes of death. [Internet]. World Health Organization [Fact sheet Updated October 2017]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>.
2. Katagiri S, Izumi Y. Diabetes and oral disease. *Clin Calcium*. 2012; 22 (1): 49-55.
3. Mirza BA, Syed A, Izhar F, Ali Khan A. Bidirectional relationship between diabetes and periodontal disease: review of evidence. *J Pak Med Assoc*. 2010; 60 (9): 766-8. PMID: 21381588.
4. Mochalov YuO, Pushkarov AO. Suchasni poglyady na mekhanizmy urazhennya tkanyn parodonta pry tsukrovomu diabeti. *Molodyy vchenyy*. 2015; 8(2): 135-8. [Ukrainian].
5. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2014; 158 (1): 35-8. PMID: 24509898. DOI: 10.5507/bp.2014.005.
6. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009. 54 (1): 52-10. PMID: 19737265. DOI: 10.1111/j.1834-7819.2009.01139.x.
7. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology*. 2000. 2003; 31: 135-66. PMID: 12657000. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2003.03109.x>.
8. Grant PJ. Diabetes mellitus as a prothrombotic condition. *J Intern Med*. 2007; 262: 157-72. PMID: 17645584. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2007.01824.x.
9. 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.
10. Galagdyna AA. Patogenez diabetichnykh angiopatii ta rol ostannikh u porushenni morfofunktsionalnogo stanu slyzovoyi obolonky rotovoyi porozhnyny. *Klinich ta eksperym patologiya*. 2015; 14 (3): 190-5. [Ukrainian].
11. Bascones-Martínez 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.
12. 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. <https://doi.org/10.1590/1678-7757201302106>.
13. Kumar M, Mishra L, Mohanty R, Nayak R. "Diabetes and gum disease: the diabolic duo". *Diabetes & metabolic syndrome*. 2014; 8: 255-8. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.022>.
14. Chávarry NG, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis. *Oral Health Prev Dent*. 2009; 7 (2): 107-27. PMID: 19583037.
15. 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. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3282f824b7>.
16. 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.
17. 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. <https://doi.org/10.2174/187153010790827975>.
18. Trentin MS, Verardi G, De C Ferreira M, De Carli JP, Da Silva SO, Lima IF, Paranhos LR. Most frequent oral lesions in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Contemp Dent Pract*. 2017 Feb 1; 18 (2): 107-11. PMID: 28174362. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1999>.
19. Buysschaert 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.

УДК 616.716.8-092:616.379-008.64-036.12-092.9

ИЗМЕНЕНИЯ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗЕ МОДЕЛИРУЕМОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА (СРОКОМ 3 МЕСЯЦА)

Германчук С. М.

Резюме. На фоне сахарного диабета происходит нарушение всех видов обмена веществ, что приводит к комплексным изменениям тканевого метаболизма и проявляется развитием диабетических микро- и макроангиопатий. К основным механизмам ассоциированных с диабетом поражений пародонта относятся: васкулярные расстройства, микробиологические расстройства, нарушения метаболизма коллагена. Поэтому целью нашего исследования является изучить патогенетическую зависимость патологии эндок-

ринной системы с морфологическими изменениями альвеолярного отростка и изменениями в показателях кальция фосфорного обмена.

Сравнительный анализ клеточного состава альвеолярного отростка показал значительное, статистически достоверное, уменьшение количества остеоцитов и достоверное увеличение остеокластов почти в два раза по сравнению с контрольной группой. Проанализировав полученные результаты морфобioхимических показателей сыворотки крови крыс и изменений костной ткани альвеолярного отростка, установлено, что при хронической стадии моделируемого сахарного диабета меняется количественный состав щелочной общей и костной фосфатазы, кальция и фосфора. Достоверное увеличение общей щелочной фосфатазы свидетельствует о наличии остеокластов резорбции и / или наоборот явлениями начального десмального остеогенеза со сложившейся грубоволокнистую костную тканью. Таким образом, при исследовании альвеолярного отростка в хронической стадии моделируемого сахарного диабета выявлены изменения, свидетельствующие о резорбцию костной ткани, способствует фиброзном превращению, которая в свою очередь снижает адаптационные силы пародонта.

Ключевые слова: сахарный диабет, пародонт, кость.

UDC 616.716.8-092:616.379-008.64-036.12-092.9

Changes in the Alveolar Process in the Chronic Phase of Simulated Diabetes Mellitus (after 3 Months Period)

Hermanchuk S.

Abstract. Diabetes mellitus holds one of the leading positions in the world. Since this disease is a consequence of insulin deficiency and involves a violation of the metabolism of all types of substances, this leads to the defeat of various organs and systems and, in the first place, the vascular bed. The damage to the small caliber vessels occurs faster and more often than the large ones. That is why the periodontal tissues state is an indicator of the first changes or disorders of the metabolic processes regulation from the endocrine system. The high incidence of oral hygiene (up to 90%) in patients with diabetes is due to changes in the microvascular system, resorption of bone tissue, lowering of local immune responses, which leads to the reduction in the periodontal endurance, while the usual chewing load becomes traumatic for supporting teeth. Most dental practitioners see the link between endocrine diseases and the oral cavity state, recognizing that the presence of diabetes malfunctions the course of dental pathology. At the same time, 36% of doctors believe that the dental pathology also worsens the course of diabetes, emphasizing the existence of a bi-directional relationship between diseases.

Materials and Methods. The experiment was conducted on 160-180 g white laboratory rats kept on a standard diet under vivarium conditions. Animals from the experimental and control groups were removed from the experiment 90 days after the start. Materials of the research were the lower jaws, which were obtained during the slaughter of the control and experimental groups animals. In determining the number of osteocytes and osteoclasts, a count was made in five fields of one sample view to calculate the average value. Research of blood serum of rats was carried out according to standard methods for determining calcium, phosphorus, total and bone alkaline phosphatase.

Results and Discussion. While comparing fragments of spongy bone with fibrous-fatty tissue in the intertrabucular space we found moderate-pronounced signs of resorptive changes: the phenomenon of osteoclastic resorption ("gaushyip" gaps) along the periphery of trabeculae; insignificant perioscytic and pericansalculatory resorption. Basophile lines have varying degrees of severity throughout the drug. In the gaps, there can be seen picnotypes of osteocytes. Bone beams are fragmented (maybe due to the preparation of drugs); most of them are elegant, festonic and 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 are 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.

A comparative analysis of the cellular composition of the aoleveolar process showed a great statistically significant reduction in the number of osteocytes and a significant increase in osteoclast almost twice as compared with the control group. After analyzing the obtained results of morphobiochemical indices of rats' blood serum and changes of alveolar sprout bone tissue, it was found out that in the chronic stage of simulated diabetes, the quantitative composition of alkaline general and bone phosphatase, calcium and phosphorus is changed. A probable increase in total alkaline phosphatase indicates the presence of osteoclastic resorption and / or the opposite of the phenomena of initial desmal osteogenesis with the formation of coarse fibrous bone tissue.

Conclusion. In the study of alveolar sprouts in the chronic stage of simulated diabetes, we have identified changes that indicate bone tissue resorption, which contributes to fibrous transformation, which, in turn, reduces adaptive forces of periodontal disease.

Keywords: diabetes mellitus, periodontal disease, bone.

Стаття надійшла 05.01.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування