

Куц П.В.¹,
Шматко В.І.¹,
Гомоляко І.В.²

ВПЛИВ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ НА ТКАНИНИ ПАРОДОНТУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ ЗІ ЩУРАМИ

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

² Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України

Ключові слова: експериментальні тварини, пародонтит, морфологія ясен, експериментальне моделювання.

Цукровий діабет є однією з серйозних медико-соціальних проблем сучасності. За поширеністю захворювання, високої частотності інвалідизації та смертності працездатної частини населення цукровий діабет посідає третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань у світі. Згідно з визначенням Комітету експертів ВООЗ, цукровий діабет — це "... стан хронічної гіперглікемії, що може розвиватися в результаті впливу багатьох екзогенних і генетичних чинників". В наш час найбільший розвиток отримала багатокомпонентна теорія етіології і патогенезу цукрового діабету, що враховує генетичні, імунологічні, інфекційні, дієтичні, дисгормональні і стресові фактори. Патогенез інсулінозалежного цукрового діабету (І тип) пов'язують із загибеллю б-клітин, що знаходяться в підшлунковій залозі і секретують інсулін. Патогенез інсулінонезалежного цукрового діабету (ІІ тип) пов'язують із нечутливістю рецепторів тканин до інсуліну, а також із порушенням секреції інсуліну б-клітинами.

Пародонтит супроводжує діабет і належить до його ускладнень. Етіопатогенез хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП) можна уявити як боротьбу пародонтогенних факторів, з одного боку, і структур пародонтального комплексу — з іншого. Безумовно, за активної участі макроорганізму. Протистояння агресивного впливу відбувається як у статичних

(бар'єрних властивостях), так і в динамічних (відновлення структур, сулькулярна рідина, імунних механізмів та ін.). Прогноз захворювання здебільшого зумовлений балансом вказаних противаг. При їх зсуві (гормональні порушення, ослаблення захисних механізмів, хронічні мікротравми, стреси, метаболічні зміни та ін.) розвивається пародонтит [6, 7, 8]. Втрата зубів при пародонтиті стоїть на першому місці серед інших стоматологічних захворювань. Гіперглікемія, що різною мірою поєднується з діабетом, може бути важливим фактором етіопатогенезу пародонтиту [3]. Однак значення його в розвитку названої патології залишається недостатньо з'ясованим.

Метою дослідження є вивчення змін слизової оболонки ясен щурів в умовах експериментальної гіперглікемії.

Матеріали та методи дослідження

Морфологічні експериментальні дослідження проводились на лабораторних білих щурах (Рис. 1) обох статей вагою від 150 до 250 гр. Всього в експерименті було використано 30 лабораторних тварин.

Тварин утримували у звичайних умовах віварію за правилами догляду, перед експериментом їх стандартизували за показниками здоров'я. При роботі з експериментальними тваринами дотримувались вимог "Науково-практичних рекомендацій з утриманням лабораторних тварин та роботі з ними" ДФЦ МОЗ

України (Протокол № 5 від 19.06.2002 р.). Експерименти проводили з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, правил біоетики та гуманного ставлення до тварин.

Модель експериментальної гіперглікемії створювали за методикою, запропонованою І.В. Гомоляко зі співавторами в 1996 р. [2]. Від інших експериментальних моделей гіперглікемії названа модель відрізняється помірними порушеннями обміну вуглеводів, які утримуються протягом значного часу, викликають певні зміни підшлункової залози та мікроциркуляторного русла. Така методика є найбільш наближеною до клінічної ситуації. Порушення обміну вуглеводів у щурів досягалося попереднім внутрішньом'язовим введенням стрептоміцина-сульфата розчиненого в фізіологічному розчині з розрахунку 15 мг/кг ваги тіла щоденно, протягом 28 діб. Рівень цукру в крові тварин контролювалася біохімічним (глюкозооксидазним) методом перед початком експерименту, на 14 та 28 день. Кров на цукор брали з хвостової вени тварини. Перед початком досліджень рівень цукру у тварин був 2,65 0,63 ммоль/л, $P < 0,05$.

Після закінчення введення стрептоміцин-сульфата на 28 добу та на 35 добу вивчали стан мікроциркуляторного русла в ділянці зубо-ясеневого з'єднання. Було сформовано 2 дослідні групи тварин: I група — інтактні тварини (контроль, $n=15$), II група — тварини з експериментальною гіперглікемією, $n=15$. Виведення лабораторних тварин із досліді здійснювалася 10% розчином тіопентала натрію шляхом передозування.



Рис. 1. Зовнішній вигляд слизової оболонки ясен щура

При моделюванні експериментальної гіперглікемії у щурів стійкі порушення обміну вуглеводів розвивалися через 14 діб від початку введення стрептоміцин-сульфату та супроводжувались зовнішніми проявами: гіподинамією, вологістю і відсутністю блиску волоссяного покриву, підвищенням рівня цукру в крові до $5,1 \pm 0,6$ ммоль/л. Протягом наступних 14 діб викликані зміни суттєво не прогресували, проте зберігалися до закінчення експерименту.

Крім того, ефективність використаної моделі оцінювалася за станом внутрішніх органів та острівцевого апарату підшлункової залози. При розтині тварин виявлялися макроскопічні відмінності, що полягали у різкому повнокрів'ї внутрішніх органів. Мікроскопічно в паренхіматозних органах спостерігалось збільшення кількості капілярів, їх повнокрів'я, в підшлунковій залозі була виявлена часткова атрофія острівців Лангерганса: зниження загальної їх кількості та щільності розташування в полі зору, збільшення розмірів збережених острівців, зауважимо, при наявності в них виражених дистрофічних змін (табл.1).

Видалені фрагменти ясен та щоки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну та обробляли за загальноприйнятою гістологічною методикою. Парафінові зрізи товщиною 5—7 мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином та азурII-еозином для оглядових досліджень, пікрофуксіном за методом Ван Гізон (I.Th.Van Gieson, 1865—1913, американський невропатолог) для вивчення стану колагенових волокон. У досліді оцінювалися стан епітелію, сполучної тканини, кровоносних мікросудин, їх кровонаповнення та кількість. Дослідження проводились на мікроскопах Jenaval (Німеччина) та Olympus BX-10 (Японія) при збільшенні окуляра $\times 10$ і об'єктива $\times 4$, $\times 25$, $\times 40$.

Для статистичної обробки матеріалу використовувалася комп'ютерна програма "Statistica for Windows" версія 6, розробники StatSoft Inc. 1984—1995, USA. Оцінка достовірності отриманих результатів визначалася за t-критерієм Ст'юдента* та за критерієм К. Пірсона (Karl Pearson) [1].

Результати дослідження

У тварин контрольної групи слизова оболонка щік покрита плоским незроговілим

ТАБЛИЦЯ 1

ЗМІНИ ПЛОЩІ ОСТРІВЦІВ ЛАНГЕРГАНСУ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ
ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ (мкм²)

Групи тварин	Частота градіацій площі островців в абсолютних одиницях і %					
	1-8,0±02 мкм ²	8,1-16±02 мкм ²	16,1-24±02 мкм ²	24,1-32±02 мкм ²	32,1-40,0±02 мкм ²	40,1±02 мкм ² і вище
Контроль (інтактні тварини)	30,0 %	35,0 %	-	5,0 %	15,0 %	15,0 %
Дослідні тварини	23,0 %	71,7 %	7,7 %	-	15,4 %	46,2%

епітелієм, в якому чітко визначаються базальний, проміжний і поверхневий шари. Шар епітелію має однакову товщину і забарвлення. Базальна мембрана тонка, місцями визначається не досить чітко. Власна пластинка слизової оболонки містить фіброзні та еластичні волокна. Сполучна тканина вдається в епітелій у вигляді невеликих сосочків. Підслизова основа включає тонкі еластичні волокна. Судинні утворення поодинокі, розташовані на різних рівнях відповідно до розташування судинних сплетень. Лімфатичні судини і гемокапіляри мають вигляд поодиноких тонкостінних неправильної форми утворень. Частіше спостерігаються біля вен (Рис.1).

Зміни слизової оболонки ясен у експериментальних тварин помітно відрізняються від здорового контролю. Багатошаровий плоский епітелій, який покриває поверхню

ясен, має морфологічні зміни, які свідчать про порушення процесів регенерації. Епітеліальний шар має виражену нерівномірну товщину — кількість клітинних шарів коливається від 3 до 10 з вакуолізацією клітин проміжного шару. У нормі кількість шарів становить 6-7. Вакуолізація епітеліальних клітин спостерігається на тлі загального зменшення вмісту, або навіть повної втрати глікогену, епітеліальними клітинами. Спостерігається також посилення процесів кератинізації. Колагенові волокна підслизової основи тонкі, розпушені. У підслизовій основі можна побачити збільшення кількості капілярів, при цьому вони утворюють характерні, розташовані поверхнево, тронovidні скупчення, що є свідченням ішемічного стану досліджуваних тканин. Характерною є візуалізація лімфатичних колекторів за рахунок їх розширення та утво-



Рис. 2. Слизова оболонка ясен, підслизова основа. Розширені гемо- та лімфокапіляри навколо зубо-ясенної кишені, периваскулярна запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксилином-еозином. Збільш. 10x20



Рис. 3. Слизова оболонка ясен. Деструкція та запальна інфільтрація навколо зубо-ясенної кишені. Забарвлення гематоксилином-еозином. Збільш. 10x10

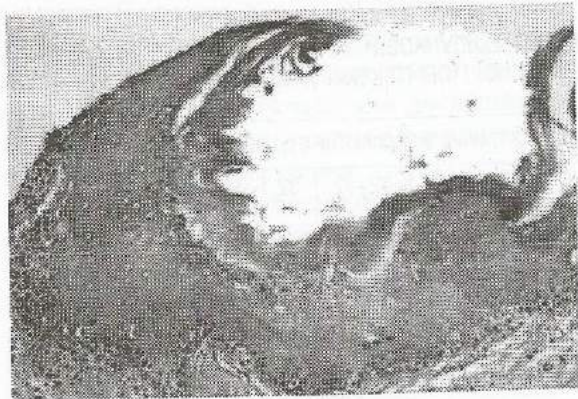


Рис. 4. Слизова оболонка ясен. Потовщення і кератинізація епітелію навколо зубо-ясенної кишені. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільш. 10x10

рення лімфостазів. Загальна кількість клітинних елементів у сполучній тканині ясен збільшена, головним чином за рахунок збільшення лімфоїдної інфільтрації (Рис. 2, 3, 4).

Аналізуючи отримані результати, слід зазначити, що навіть в умовах відносно нетривалої і помірної гіперглікемії відбуваються помітні патологічні зміни будови мікроциркуляторного русла, слизової оболонки в ділянці ясен і, особливо, зубо-ясенного з'єднання. Порушення мікроциркуляції характеризуються збільшенням кількості капілярів, за рахунок відкриття резервних або утворення нових капілярів. Ці зміни капілярів мають осередковий і поверхневий характер. Однак при цьому спостерігається помітна реакція лімфокапілярного русла з присутністю лімфостазів. Колагенові структури зубо-ясенного сполучення втрачають свою щільність і, відповідно, міцність, що сприяє розхитуванню зубів. Запальна інфільтрація виражена помірно, але при цьому охоплює не тільки поверхневі, але й глибокі шари ясен. Значні зміни спостерігаються в епітелії, що проявляється вираженими дистрофічними процесами, порушеннями регенерації. У цілому

зміни у слизовій оболонці ясен виражені досить нерівномірно, спостерігається сполучення гіперпластичних, дистрофічних та атрофічних змін, що є загальною закономірністю для ішемізованих тканин та хронічних запальних процесів.

Описані вище зміни у слизовій оболонці ясен є характерними і для слизової оболонки щоки піддослідних тварин, хоча у слизовій оболонці щоки вони виражені меншою мірою. У слизовій оболонці щоки переважають дистрофічні зміни епітелію, при цьому вираженість останніх є нерівномірною й у різних тварин, і в різних ділянках покривного епітелію в межах одного фрагменту слизової оболонки; судинні реакції — поверхневі, а запальна інфільтрація — відсутня.

Таким чином, в умовах проведеного експерименту отримані виражені зміни в будові слизової оболонки ясен, які є аналогічними до тих, які спостерігаються при пародонтиті у людей. Ці дані свідчать про важливу роль навіть незначних порушень вуглеводного обміну в генезі пародонтиту [4, 5]. Ішемічний стан із порушеннями функції гемо- і лімфообігу, незалежно від причин, які його викликають, можуть призводити до підвищення чутливості тканин пародонту до інших етіотропних чинників, в тому числі й до інфекційних.

Враховуючи значний вплив порушень вуглеводного обміну на функцію нейтрофільних лейкоцитів, основних захисників зубо-ясенної борозни, можна говорити про гіперглікемію як один із основних причинних факторів ініціації розвитку запально-дистрофічних процесів у тканинах пародонту. Анатомічні, метаболічні, структурні, функціональні, імунологічні, мікробні особливості пародонту дають підстави бути йому найбільш уразливим при системних захворюваннях, наприклад таких як вуглеводневий обмін. Це підтвердили наші дослідження, що виявили різницю змін при однаковому впливі гіперглікемії на слизову оболонку тканин пародонту та щік в експерименті у щурів.

ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА НА ТКАНИ ПАРОДОНТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С КРЫСАМИ

Куц П.В., Шматко В.И., Гомоляко И.В.

Резюме: предупреждение заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом является принципиально важным. Динамика патологических изменений тканей пародонта при пародонтите у пациентов с сахарным диабетом является сложной и до конца не выяснена. Понимание механизмов этих изменений играет решающую роль в определении эффективного подхода к лечению. Целью настоящего исследования была оценка влияния гипергликемии на морфологические изменения в тканях пародонта.

Ключевые слова: экспериментальные животные, пародонтит, морфология десны, экспериментальное моделирование.

INFLUENCE OF CARBOHYDRATE METABOLISM DISORDERS IN PERIODONTAL TISSUE IN EXPERIMENTS WITH RATS

Kuts PV, Shmatko VI, Homolyako IV

Abstract. Prevention of periodontal disease in diabetic patients is crucial. The dynamics of pathological changes of periodontal tissue in periodontitis patients with diabetes mellitus is complex and not fully understood. Understanding the mechanisms of these changes plays a crucial role in determining an effective approach to treatment. The purpose of this study was to evaluate the influence of hyperglycemia on the morphological changes in periodontal tissues.

Keywords: experimental animals, parodontitis, gingival morphology, experimental simulation.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. - М.: Физматлит, 2006. - 816 с.
2. Клочков Е. И. Моделирование сахарного диабета с использованием больших доз стрептомицина / Е. И. Клочков, И. В. Гомоляко // Клінічна хірургія. - 1996. - № 2-3. - С. 65.
3. Мащенко И.С. Содержание ИЛ-1БЕТА у больных генерализованным пародонтитом, страдающих сахарным диабетом II типа / Мащенко И.С., Гударьян А.А. // Современная стоматология. - 2005. - N 1. - С.61-63.
4. Пузин М. Н. Этиопатогенические аспекты хронического генерализованного пародонтита / Пузин М. Н., Кипарисова Е. С., Вагнер В. Д., Мамедова Л. А., Подойникова М. Н., Гнездицкий В.В. // Российский стоматологический журнал. - 2010. - №1. - С.29-35.
5. Пузин М.Н. Комплексная оценка неспецифических факторов риска при генерализованном пародонтите / Пузин М.Н., Кипарисова Е.С., Боднева Л. // Российский стоматологический журнал. - 2003. - № 3. - С.29-35.
6. Цепов Л.М. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта / Цепов Л.М., Николаев А.И, Михеева Е.А. // М.: МЕДпресс-информ, - 2008. - 272 с.: ил.
7. Straka M. Пародонтит и диабет // Новое в стоматологии. - 2002. - N 8. - С.32-35
8. Yoo-Jung Um. The influence of diabetes mellitus on periodontal tissues: a pilot study / Yoo-Jung Um, Ui-Won Jung, Chang-Sung Kim, Eun-Jung Bak, Jeong-Heon Cha, Yun-Jung Yoo, Seong-Ho Choi / J. Periodontal Implant Sci. - 2010. - № 40(2). - P. 49-55.