

УДК 616.153.455.01

О.А. Варакута, О.Г. Куц

Кафедра пропедевтичної та хірургічної стоматології (зав. – д. б. н. О.Г. Куц) Запорізький державний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ У ПАРОДОНТІ ЩУРІВ ПРИ НАЯВНОСТІ ФОТОПОЛІМЕРНОЇ ПЛОМБИ І ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Резюме. Упродовж чотирьох тижнів досліджено розподіл глікозаміногліканів у тканинах пародонта у щурів з фотополімерною пломбою, пломбою на тлі цукрового діабету і з експериментальним цукровим діабетом. За наявності фотополімерної пломби відбувається зниження загальної кількості глікозаміногліканів в епітелії ясен, зменшення накопичення гіалуронової кислоти на 30-у добу спостереження і збільшення накопичень гепаран-сульфату в тучних клітинах. При експериментальному цукровому діабеті в тканинах пародонту прогресивно зменшується кількість низько- і високосульфатованих глікозаміногліканів. Наявність фотополімерної пломби і цукрового діабету призводить до зниження накопичення високосульфатованих глікозаміногліканів у тканинах пародонту, зменшення кількості гепаран-сульфату в базальній мембрані і накопиченню кислих глікозаміногліканів у тучних клітинах.

Ключові слова: пародонт, пломба, цукровий діабет.

За даними Міжнародної федерації діабету, у 2030 році кількість хворих на цукровий діабет становитиме 552 мільйонів. Серед клінічних проявів цукрового діабету характерними є пародонтопатії і тому пацієнти даної категорії часто звертаються за стоматологічною допомогою. Одночасно, в останні роки спостерігається суттєве зростання кількості пацієнтів, у яких формується алергопереносимість до певного протезного матеріалу [1]. Доволі часто спостерігається комбінація патологій: алергія до пломбувального матеріалу та цукровий діабет.

Але до сьогодні фахівці не вивчали питання щодо особливостей архітектоніки сполучної тканини ясен у нормі та при її структурній перебудові на тлі індукованого цукрового діабету і за наявності фотополімерного пломбувального матеріалу, а саме: розподілу глікозаміногліканів в екстрацелюлярному матриксі тканин ясен, зуба, окістя і кістки.

Мета дослідження: вивчити розподіл глікозаміногліканів у динаміці в тканинах пародонту у щурів після постановки фотополімерної пломби при експериментальному цукровому діабеті, а також за наявності пломби на тлі діабету.

Матеріал і методи. Об'єктом дослідження стали щелепи лабораторних статевозрілих щурів. Щури були поділені на 4 групи: група 1 – інтактна; група 2 – з наявністю фотополімерної пломби; група 3 – з експериментальним цукровим ді-

абетом; група 4 – з наявністю фотополімерної пломби на тлі експериментального цукрового діабету. У дослідженні було задіяно 23 тварини, згідно з Біоетичною концепцією «3 R» щодо зменшення кількості тварин в експерименті за умови отримання експериментатором необхідного статистично достовірного результату. Під час роботи з експериментальними тваринами дотримувалися біоетики згідно з положенням "Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). Тваринам експериментальної групи встановлювали фотополімерну пломбу на латеральну поверхню лівого різця ближче до ясенної кишені. Методика постановки пломби детально описана у попередній роботі [2]. Оскільки у щурів різці ростуть постійно, забір матеріалу проводили через два і чотири тижні. У щурів стрептозотоциновий цукровий діабет викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозоточину фірми «Sigma» з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготованому на 0,1 М цитратному буфері, рН = 4,5). Розвиток цукрового діабету протягом 14 днів контролювали за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози понад 14 ммоль/л. Інтактні тварини відповідного віку становили контрольні групи. Забій тварин здійснювали з 13:00 до 14:00

© Варакута О.А., Куц О.Г., 2016

години шляхом декапітації під глибоким ефірним наркозом. Для дослідження брали фрагменти щелеп протягом декількох хвилин після забою. Матеріал фіксували в рідині Буена та в 10%-му розчині формаліну, декальцінували, зневоднювали, заливали парафіновою сумішшю та виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5-6 мкм. Увесь комплекс глікозаміногліканів виявляли альціановим синім при рН 2,6 з критичними концентраціями $MgCl_2$ різної молярності і після обробки зрізів тестулярною гіалуронідазою. Результати гістохімічної реакції оцінювали напівкількісним методом.

Результати дослідження та їх обговорення.

Важливу роль у захисних функціях епітелію ясен, особливо у стосовно потрапляння інфекцій і токсинів у підлеглу тканину, відіграють глікозаміноглікани, що входять до складу цементуючої речовини між клітинами багат шарового плоского епітелію. На якісну та кількісну характеристику накопичень глікозаміногліканів впливає характер мікрофлори біоплівки ясен. У попередніх роботах гістобактеріологічним методом було досліджено мікрофлору біоплівки [3]. У тварин з пломбою переважала грампозитивна кокова мікрофлора і кількість мікроорганізмів на умовну одиницю площі становила 843 ± 34 клітин на 15-у добу експерименту і 679 ± 43 – на 30-у добу експерименту, що супроводжувалося зменшенням загальної кількості глікозаміногліканів, вірогідно за рахунок дії ферментів бактеріального походження.

У тварин з експериментальним цукровим діабетом кількість бактеріальних клітин була більшою і на 15-у і 30-у добу спостереження, ніж у першій групі в середньому на 15-20 %, і, відповідно, значно зменшувався загальний вміст усіх глікозаміногліканів. У групі тварин з наявністю пломбувального матеріалу на тлі експериментального цукрового діабету в біоплівці на 15-у і 30-у добу експерименту налічувалась найбільша кількість бактеріальних клітин, а міжклітинний простір мав ледь блакитний відтінок (+), що вказувало на найслабше накопичення глікозаміногліканів усіх типів. Для порівняння: у тварин інтактної групи кількість мікроорганізмів у біоплівці становила 256 ± 67 клітин на 15-у добу і 276 ± 23 – на 30-у добу спостереження, а накопичення всіх типів глікозаміногліканів (молярна концентрація $MgCl_2 = 0,2$) відбувалося інтенсивніше (+++). У тварин експериментальних груп мікроорганізми мали скупчення у вигляді агрегатів, а у тварин інтактної групи вони частково розподілялися по товщі біоплівки. Також треба відзначити, що у тварин експериментальних груп бактеріальна мікрофлора заселяла найглибше розташовані шари епідермісу, на відміну від контрольної групи. Тому

можна стверджувати, що у тварин з пломбою та моделлю цукрового діабету бар'єрні функції епітелію є зниженими. Особливо помітними дані зміни є у тварин 4-ї групи.

Аналізуючи розподіл кератинсульфата, хондроїтин-4-сульфату, хондроїтин-6-сульфату, гіалурунової кислоти та гепарину, встановлено, що значно зменшилося накопичення гіалурунової кислоти та хондроїтин-4-сульфату в епітелії ясен у тварин з цукровим діабетом і в групі тварин з пломбувальним матеріалом на тлі цукрового діабету, в порівнянні з тваринами інтактної групи. Особливо зменшився вміст високосульфатованих форм глікозаміногліканів на 30-у добу експерименту у тварин з пломбувальним матеріалом на тлі експериментального цукрового діабету. У тварин з пломбувальним матеріалом значно зменшилося накопичення саме кератинсульфату в шипуватому шарі епідермісу як на 15-у, так і на 30-у добу експерименту.

У слизовій оболонці у тварин інтактної групи розподіл глікозаміногліканів за інтенсивністю накопичення має такий характер: домінує хондроїтин-4-сульфат, потім - дерматан-сульфат, гіалурунова кислота і гепаран-сульфат (найбільша його кількість накопичується в тучних клітинах). У тварин з пломбувальним матеріалом відзначається зростання відкладень гепарансульфату в базальних гранулоцитах і зменшення накопичення гіалурунової кислоти як на 15-у, так і на 30-у добу спостереження. Зменшення накопичення гіалурунової кислоти може вказувати на погіршення трофічної функції і процесу регенерації у слизовій оболонці, а зростання кількості гранул, що утримують гепаран-сульфат у тучних клітинах, на підвищену реактивність даних клітин. Відомо, що значну роль у регуляції проникності капілярно-сполучнотканних структур відіграє система гіалурунова кислота-гіалуронідаза. Гіалуронідаза (вірогідно бактеріального походження) викликає деполімерізацію глікозаміногліканів, руйнує зв'язок гіалурунової кислоти з білком, тим самим різко зростає проникність сполучної тканини, що призводить до часткової втрати бар'єрної функції. Внаслідок цього зменшується захист глікозаміногліканами тканин пародонта від бактеріальних і токсичних агентів.

У тварин з експериментальним цукровим діабетом і у тварин з фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету зменшується накопичення високосульфатованих глікозаміногліканів (+), що вказує на зменшення міцності тканини.

Спостереження за експериментальними щурами підтвердило даний факт: зуби не так міцно трималися у зубній кишені і легше випадали з неї при виготовленні гістологічного препарату.

У тварин інтактної групи в періодонті нейтральні глікозаміноглікани виявляються навколо пучків волокон по всій лінії періодонта. У тварин 2-ї групи у періодонтальній зв'язці виявляється зниження накопичення низькосульфатованих глікозаміногліканів, особливо на 30-у добу спостереження. У тварин з експериментальним цукровим діабетом і у тварин 4-ї групи на 30-у добу спостереження зменшується накопичення як низько-, так і високосульфатованих глікозаміногліканів (до ++/+, в нормі +++/+++).

У первинному цементі глікозаміноглікани практично не виявляються в усіх групах спостереження. У вторинному цементі нейтральні глікозаміноглікани в помірній кількості виявляються у тварин інтактної групи (+/0), а також спостерігається накопичення дерматан-сульфату (+). У тварин із фотополімерною пломбою зменшується накопичення дерматан-сульфату у вторинному цементі на 30-у добу спостереження, а у тварин 3-ї та 4-ї груп особливо помітно зменшується накопичення високосульфатованих глікозаміногліканів на 30-у добу.

У нормі в пульпі зуба виявляються всі типи глікозаміногліканів. Але переважає хондроїтин-4-сульфат та хондроїтин-6-сульфат. У меншій кількості виявляється дерматан-сульфат, кератин-сульфат та гіалуронова кислота. У тварин з фотополімерним матеріалом на 30-у добу спостереження зменшується кількість гіалуронової кислоти. А у тварин з цукровим діабетом і пломбою на тлі цукрового діабету значно зменшується кількість кератин-сульфату саме на 30-у добу.

У кістковій тканині нейтральні глікозаміноглікани розташовуються, головним чином, навколо остеонів. У тварин інтактної групи і у тварин 2-ї групи розподіл усіх типів глікозаміногліканів у кістковій тканині майже однаковий. А у тварин 3-ї та 4-ї груп на 30-у добу спостереження зменшується накопичення дерматан-сульфату і гіалуронової кислоти, особливо в компактній пластинці.

Слід звернути увагу, що кислі глікозаміноглікани найбільше накопичуються в базальних гранулоцитах, тому клітини мають яскраво-бірюзовий колір. У тварин з фотополімерною пломбою на 15-у добу спостереження збільшується кількість гранул у цитоплазмі тучних клітин. У тварин з експериментальним цукровим діабетом і пломбою одночасно помітно зростає кількість тучних клітин з дегранульованою цитоплазмою і тому клітини набувають розмитих, нечітких контурів.

Таким чином, у нормі сполучна тканина пародонта містить у собі в основному сульфатовані глікозаміноглікани, що співпадає з даними інших авторів [4]. Переважно вони розташовані в ділянці сполучнотканинних сосочків, у структурі ба-

зальної мембрани. В основному їх роль пов'язана з формуванням колагенових та еластичних волокон. Глікозаміноглікани огортають фібрили і філаменти між фібрилами. У періодонті вони розташовані в стінках судин і впродовж періодонтальної мембрани, їх кількість особливо зростає навколо циркулярної зв'язки. Головною їх функцією буде формування колагенових волокон м'яких тканин ясен і прилеглих тканин. Разом з тим, з попередніх робіт відомо, що у тварин з пломбувальним матеріалом та з модульованим експериментальним цукровим діабетом порушується пружня біодинамічна тривимірна фібрилярна система тканин пародонту. У експериментальних тварин циркулярні волокна розшаровані, мають сегментарний характер. Візуально волокна стоншуються, фрагментуються, чим і можливо пояснити легке випадіння зубів із щелеп у тварин експериментальної групи при фіксації біоматеріалу [5].

У нормі найбільша кількість глікозаміногліканів має спостерігатися навколо незрілих колагенових волокон, але, як показав попередній експеримент, кількість останніх різко зменшується на тлі діабету [6].

Сульфатовані глікозаміноглікани входять до складу декорину і біглікану, які пов'язують між собою зрілі та незрілі колагенові волокна (I і III типів), що забезпечує формування кісткової тканини коміркового відростка.

В експерименті було продемонстровано, що порушення синтезу глікозаміногліканів призвело до того, що слизова оболонка нещільно і рухомо зростається з окістям коміркового відростка щелепи.

Стосовно базальної мембрани, що розділяє власну пластинку слизової оболонки та епітеліальний пласт, відомо, що до її складу входять гепаран-сульфат разом з ламініном і колагеном IV типу. Зміни у накопиченні гепаран-сульфату в базальній мембрані призводять до порушення тканинного бар'єра у експериментальних тварин, особливо це виражено у тварин з діабетом.

Висновки. 1. Наявність фотополімерної пломби призводить до зниження загальної кількості глікозаміногліканів в епітелії ясен, зменшенню накопичення гіалуронової кислоти на 30-у добу спостереження і збільшенню накопичень гепаран-сульфата в тучних клітинах. 2. На тлі експериментального цукрового діабету в тканинах пародонту прогресивно зменшується кількість низько- і високосульфатованих глікозаміногліканів. 3. Наявність фотополімерної пломби і цукрового діабету призводить до зниження накопичення високосульфатованих глікозаміногліканів у тканинах пародонта, зменшення кількості гепаран-сульфату в базальній мембрані і накопиченню кислих глікозаміногліканів у тучних клітинах.

Перспективи подальших досліджень. Планується дослідити роль тучних клітин у морфофункціональній перебудові тканин па-

родонту при наявності пломбувального матеріалу на тлі експериментального цукрового діабету.

Список використаної літератури

1. Дойников А.И. Клинико-иммунологические параллели непереносимости разнородных сплавов металлов зубных протезов / А.И. Дойников, Е.М. Кортяков, Е.М. Долгий // *Стоматология*. – 1990. – № 1. – С. 55-59.
2. Куц О.Г. Адаптова методика постановки пломбувального матеріалу в експерименті / О.Г. Куц, О.А. Варакута // *Український медичний альманах*. – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток). – С. 158-160.
3. Варакута О.А. Особливості структури біоплівки епітелію зубодесневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу у щурів / О.А. Варакута, О.Г. Куц // *Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии. Сборник научных трудов. Выпуск 11., Ч. I. Матер. науч.-практ. конф. с межд. Участием «Гофуновские чтения» в рамках празднования 210-летия ХНМУ и международного Дня стоматолога. Харьков (10 февраля 2015 г.)* – С. 74-78.
4. Ларионов Е.В. Роль сульфатируемых гликозаминогликанов (сГАГ) в физиологии и патофизиологии тканей пародонта / Е.В. Ларионов, Т.А. Глыбина // *Стоматология сегодня*. – 2007. – № 2 (62). – С. 3.
5. Варакута О.А. Особливості фібрилоархітектоніки в тканині пародонту після встановлення пломбувального матеріалу на тлі цукрового діабету / О.А. Варакута, О.Г. Куц // *Зб. мат. міжнар. наук.-практ. конф. «Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя» (27-28 березня 2015р. Львів.)* – С. 99-101.
6. Варакута О.А. Розподіл колагену III типу в тканині пародонту при експериментальному цукровому діабеті / О.А. Варакута, О.Г. Куц // *Зб. мат. міжн. наук.-практ. конф. «Сучасні наукові дослідження представників медичної науки – прогрес медицини майбутнього» (3-4 квітня 2015 р.)*. – К. – С. 10-12.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В ПАРОДОНТЕ КРЫС ПРИ НАЛИЧИИ ФОТОПОЛИМЕРНЫХ ПЛОМБ И САХАРНОГО ДИАБЕТА

Резюме. В течение месяца наблюдений исследовано распределение гликозаминогликанов в тканях пародонта у крыс с фотополимерной пломбой, пломбой на фоне сахарного диабета и с экспериментальным сахарным диабетом. При наличии фотополимерной пломбы происходит снижение общего количества гликозаминогликанов в эпителии десен, уменьшается накопление гиалуроновой кислоты на тридцатые сутки наблюдения и увеличивается накопление гепаран-сульфата в тучных клетках. При экспериментальном сахарном диабете в тканях пародонта прогрессивно уменьшается количество низко- и высокосульфатированных гликозаминогликанов. Наличие фотополимерной пломбы и сахарного диабета приводит к снижению накопления высокосульфатированных гликозаминогликанов в тканях пародонта, уменьшению количества гепаран-сульфата в базальной мембране и накоплению кислых гликозаминогликанов в тучных клетках.

Ключевые слова: пародонт, пломба, сахарный диабет.

FEATURES OF DISTRIBUTION OF GLYCOSAMINOGLYCANS IN RATS' PERIODONTAL TISSUE WITH PHOTOPOLYMER FILLINGS AND DIABETES MELLITUS

Abstract. Within a month of observations we studied the distribution of glycosaminoglycans in the periodontal tissues of rats with photopolymer fillings, fillings against diabetes mellitus and experimental diabetes mellitus. With photopolymer fillings total quantity of glycosaminoglycans in the epithelium of the gum is decreased, accumulation of hyaluronic acid on the thirtieth day of observation decreases, and accumulation of heparan sulfate in mast cells increases too. In experimental diabetes in the periodontal tissues the number of low- and high sulfate glycosaminoglycans progressively decreases. Availability of a photopolymer filling and diabetes mellitus leads to the decrease in the accumulation of high sulfate glycosaminoglycans in the periodontal tissues, decreased heparan sulfate in the basement membrane and accumulation of acidic glycosaminoglycans in mast cells.

Key words: periodontal, fillings, diabetes mellitus.

Zaporozhye State Medical University (Zaporozhye)

Надійшла 20.01.2016 р.

Рецензент – проф. Матешук-Вацеба Л.Р. (Львів)