

©L. V. Rubas

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: rebukhal@gmail.com

## Structural changes of the disc of temporomandibular joint in rats with streptozotocin-induced diabetes

### INFORMATION

Надійшла до редакції/Received:  
26.02.2020 р.

**Key words:** streptozotocin;  
temporomandibular joint;  
collagen fibers; arteries; veins;  
diabetes.

### ABSTRACT

**Summary.** There is a significant prevalence of dental diseases in patients with diabetes. Temporomandibular joint (TMJ) disorders occupy one of the first places among them. However, there is no data on the diabetes effect on the disc of the TMJ.

**The aim of the study** – to establish structural changes of TMJ disc in rats with hyperglycemia.

**Materials and Methods.** Sixty white mature male rats were divided into 4 equal groups. Animals of first and second groups were simulated with streptozotocin-induced diabetes. Rats of third and fourth groups were used as controls at appropriate period to the experimental. Slaughtering of animals was carried out after 30 and 60 days from the start of the experiment, after which the TMJ complexes and adjacent soft tissues were collected. Biological material was prepared according to conventional methods. Histological sections were examined with the help of microscopes.

**Results and Discussion.** The structure of the disc of TMJ of control rats did not change. Its' significant remodeling was visualized in animals with diabetes. Thickening of the walls of arteries and widening of venous lumen and swelling of the collagen fibers were observed after 30 days of the experiment. Thickening of the fibers of collagen and predominance of histiocytes were visualized after 2 months of the diabetes. Lumen of arteries were narrowed and plethora was observed in the veins of the hemomicrocirculatory bed.

**Conclusions.** Restructuring of the disk of TMJ of rats with diabetes are manifested by mucoid swelling of collagen fibers and morphological changes in the hemomicrocirculatory vascular bed that can lead to dystrophy of the disc.

**Introduction.** The number of people with diabetes mellitus has been steadily growing around the world recent decades [1]. The situation with the growth of this disease and its complications in our country is critical too. The Center of Medical Statistics of the Ministry of Health of Ukraine recorded 2 757.7 million people with diabetes in 2017. However, the number of patients in Ukraine is 2–3 times higher due to latent forms of diabetes. The progressive growth of the number of patients and the significant risk of complications suggest that diabetes is a medical and social problem all over the world including Ukraine [2–4]. There is a significant prevalence of dental diseases in

patients with diabetes [5]. Temporomandibular joint (TMJ) disorders occupy one of the first places among them [6]. People who attended dentists suffers from diseases of the TMJ in 37–67 % of cases. Women more commonly complain on the symptoms of TMJ disorders than men do. It is 8.4: 1 in percentage [7]. However, there is no scientific data on the diabetes effect on the disc of the TMJ.

**The aim of the study** – to establish structural changes of the disc of TMJ in rats with streptozotocin-induced hyperglycemia.

**Materials and Methods.** The experiment was carried out on the basis of the Central Research Laboratory of I. Horbachevsky Ternopil National

Medical University. Sixty white mature male rats of Vistar line were divided into 4 groups of 15 individuals in each. Their weight varied within 90–320 g. Animals were obtained the vivarium's standard ration. Rats of first and second groups were simulated with diabetes. Diabetes mellitus was caused by a single injection of streptozotocin "Sigma" intraperitoneally at the rate of 50 mg/kg. Animals of third and fourth groups were used as controls at the appropriate period of observation. Rats were withdrawn from the experiment after 30 and 60 days from its beginning [8]. Slaughtering of animals was carried out by bloodletting under the sodium thiopental anesthesia at the rate of 25 mg/kg, after which the TMJ complexes and adjacent soft tissues were collected.

Experiment was performed in accordance with the "General Ethical Principles of Experiments on Animals" (Ukraine, 2001), the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals, Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986) and Helsinki's Declaration of the General Assembly of the World Medical Association [9].

In order to get histological sections, bone fragments were fixed in 10 % neutral formalin solution. Then we decalcified them in 10 % nitric acid and dehydrated in increasing concentration alcohols after which poured them into paraffin blocks. Histological sections (6–8 microns thick) were prepared, placed on slide glasses and stained with hematoxylin-eosin [10]. Specimens were displayed on a computer with the help of Delta Optical microscope, digital camera (Digital Camera CMOS) and ToupView software at various magnifications for photographic documentation.

**Results and Discussion.** Diabetes mellitus is degenerative disease, which is dangerous in its complications. It affects all systems of human body, especially oral cavity [11, 12]. Scientific literature establishes that the loose of teeth, caused by diabetic periodontitis, leads to TMJ disorders [13, 14]. However, our research proves that diabetes mellitus influences directly on the structure of TMJ.

Movements of mandible of rats (lowering, lifting, pushing right, and left, forward and backward) are carried out with participation of functional system, called diarthrosis, which consists of temporomandibular joints of both sides. Macroscopic examination showed that TMJ includes head of mandible and temporal bone. The head of the mandible have a form of sagittally located roller. Grooved fossa is the joint surface

of temporal bone, on which the head of mandible slides along. TMJ is covered by capsule and is surrounded by ligaments and muscles. The joint surfaces are covered by cartilage, called disc. It is oval and has a form of two-concave plate that is slightly thicker in the periphery and thinner in center. The TMJ disc repeats the shape of the anterior mandibular fossa on top and the head of the mandible below and therefore makes articular surfaces congruent. The head of the mandible is tightly attached to the disc in its medial and lateral parts. Anterior medial part of TMJ disc is connected with lateral pterygoid muscle's tendon. In addition, its peripheral divisions grow with capsule in circle and therefore divide articular cavity into two chambers (upper and lower) fulfilled with synovial fluid.

Histological examination of the disc showed that it consist of dense fibrous connective tissue. It is also characterized by a small amount of cellular elements of the fibroblastic row. The collagen fibers of the central layers of the disc were situated more loosely. There were thin, twisting elastic fibers with a single amount of cellular elements of the fibroblastic row among the collagen fibers. Mature fibrocytes were situated parallel to the surface of the disk near the contact with lower jaw. There are layers of loose connective tissue between the fibrous plates. They contain blood vessels of small and medium caliber.

The structure of TMJ disc of rats of control groups did not change. Its remodeling was noticed in rats with hyperglycemia. It was observed the swelling of the collagen fibers in rats, which were withdrawn from the experiment after 30 days. In addition, there was a slight increasing of amount of fibroblasts, macrophages and mast cells. Histological changes were also visualized in blood vessels. There was not considerable thickening of the walls of arteries and arterioles. The lumen of veins was expanded a little bit. The influence of hyperglycemia, which lasted sixty days, on the structure of the disc of TMJ of rats is characterized by significant thickening of collagen fibers and noticeable growing of cellular infiltrate with predominance of the number of fibroblasts, macrophages and mast cells. Also narrowing of the lumen of the arteries and plethora in veins were visualized in the hemomicrocirculatory bed.

**Conclusions.** Streptozotocin-induced diabetes negatively influence on the structure of disc of TMJ of the rats. It results into mucoid swelling of collagen fibers and microangiopathy. Such remodeling leads to hypoxia, dystrophy and

atrophy of the disc and therefore may cause different TMJ disorders.

**Prospects of further researches.** Knowledge of the anatomical features of the TMJ and its restructuring in people with diabetes will allow avoiding mistakes in diagnosing diseases of

the joint, morphologically justify the choice of tactics of complex correction of its pathologies in hyperglycemia, also safe masticatory function appropriate to the patient's age and therefore ensure its socio-biological well-being and lifetime.

©Л. В. Рубас

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

## Структурні зміни диска скронево-нижньощелепного суглоба у щурів при стрептозотоциніндукованому діабеті

**Резюме.** Поширеність стоматологічних захворювань у людей із цукровим діабетом щоденно зростає. Одне з перших місць серед них займають розлади скронево-нижньощелепних суглобів. Однак наукових даних про вплив діабету на структурні компоненти скронево-нижньощелепного суглоба (СНЩС) немає.

**Мета дослідження** – встановити структурні зміни диска СНЩС у щурів з експериментальною гіперглікемією.

**Матеріали та методи.** Шістдесят білих статевозрілих щурів-самців розділили на 4 групи по 15 особин у кожній. Тваринам першої та другої груп моделювали стрептозотоциніндукований діабет. Щурів третьої та четвертої груп використовували в якості контрольних у відповідний період експерименту. Забій тварин проводили через 30 та 60 днів від початку експерименту шляхом кровопускання під наркозом тіопенталу натрію, після чого здійснювали забір комплексів СНЩС танавколишніх м'яких тканин. Біологічний матеріал готували за загальноприйнятою методикою. Гістологічні зрізи досліджували за допомогою мікроскопів, після їх розміщення на предметних скельцях та фарбування гематоксилін-еозином.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Структура диска СНЩС контрольних тварин не змінювалася. Гістологічно його значна перебудова візуалізувалась у щурів із діабетом. Потовщення стінок артерій та розширення венозного просвіту, а також набряк колагенових волокон спостерігали після 30 днів експерименту. Потовщення волокон колагену та переважання гістіоцитів (макрофагів, фібробластів, опасистих клітин) візуалізувались через 2 місяці від створення моделі діабету. Просвіт артерій і артеріол звужувався, а у венах гемомікроциркуляторного русла спостерігалось повнокров'я.

**Висновки.** Реструктуризація диска СНЩС щурів із стрептозотоцин-індукованим діабетом проявляється мукоїдним набряком колагенових волокон та морфологічними змінами судин гемомікроциркуляторного русла, що може призвести до дистрофії диска, а відтак і до різноманітних розладів даного суглоба.

**Ключові слова:** стрептозотоцин; скронево-нижньощелепний суглоб; колагенові волокна; артерії; вени; діабет.

©Л. В. Рубас

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины

## Структурные изменения диска височно-нижнечелюстного сустава у крыс при стрептозотоцининдуцированном диабете

**Резюме.** Распространенность стоматологических заболеваний у людей с сахарным диабетом ежедневно растет. Одно из первых мест среди них занимают расстройства височно-нижнечелюстных суставов. Однако научных данных о влиянии диабета на структурные компоненты височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) нет.

**Цель исследования** – установить структурные изменения диска ВНЧС у крыс с экспериментальной гипергликемией.

**Материалы и методы.** Шестьдесят белых половозрелых крыс-самцов разделили на 4 группы по 15 особей в каждой. Животным первой и второй групп моделировали стрептозотоцининдуцированный диабет. Крыс третьей и четвертой групп использовали в качестве контрольных в соответствующий период эксперимента. Убиение животных проводили через 30 и 60 дней от начала эксперимента путем кровопускания под наркозом тиопентала натрия, после чего осуществляли забор комплексов ВНЧС и окружа-

ющих мягких тканей. Биологический материал готовили по общепринятой методике. Гистологические срезы исследовали с помощью микроскопов, после их размещения на предметных стеклах и окрашивания гематоксилин-эозином.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Структура диска ВНЧС контрольных крыс не менялась. Гистологически его значительная реструктуризация визуализировалась у животных с диабетом. Утолщение стенок артерий и расширение венозного просвета, а также отек коллагеновых волокон наблюдали после 30 дней эксперимента. Утолщение волокон коллагена и преобладание гистиоцитов (макрофагов, фибробластов, тучных клеток) визуализировались через 2 месяца от создания модели диабета. Просвет артерий и артериол сужался, и в венах гемомикроциркуляторного русла наблюдалось полнокровие.

**Выводы.** Реструктуризация диска ВНЧС крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом проявляется мукоидным отеком коллагеновых волокон и морфологическими изменениями сосудов гемомикроциркуляторного русла, что может привести к дистрофии диска, а затем и к различным расстройствам данного сустава.

**Ключевые слова:** стрептозотоцин; височно-нижнечелюстной сустав; коллагеновые волокна; артерии; вены; диабет.

## LITERATURE

1. Kolesnyk Y. M. Current methods of the modeling of experimental diabetes mellitus type 2: a literature review / Y. M. Kolesnyk, T. V. Ivanenko, A. V. Abramov // Патологія. – 2016. – № 1 (36). – С. 10–14.
2. Шандиба І. О. Епідеміологічні особливості цукрового діабету 1 типу у дітей Сумської області / І. О. Шандиба, А. М. Лобода // Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини. – Суми : СумДУ. – 2017. – С. 429.
3. Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2015 рік // Ендокринологія. – 2016. – Т. 21, № 1. – 40 с.
4. Стандарти надання медичної допомоги хворим на цукровий діабет медичною сестрою загальної практики / Н. І. Рега, А. В. Василенко, О. Р. Рега, З. Г. Золотий // Медсестринство. – 2019. – № 1. – С. 8–12.
5. Жеро Н. І. Оральні маніфестації метаболічного синдрому і роль стоматолога у своєчасній діагностиці та лікуванні системної патології / Н. І. Жеро // Україна. Здоров'я нації. – 2017. – № 2. – С. 136.
6. Нідзельський М. Я. Механізми формування патологічного прикусу : монографія / М. Я. Нідзельський, В. М. Соколовська. – Полтава : ФОРМ БЛОТІН А. В., 2018. – 118 с.
7. Лунькова Ю. С. Особливості топографо-анатомічних і морфологічних змін елементів СНЩС у пацієнтів з одностороннім та двостороннім вивихом суглобового диска за даними мрт-досліджень / Ю. С. Лунькова, Ю. В. Ступіна, В. М. Новіков // Український стоматологічний альманах. – 2016. – № 3 (2). – С. 46–50.
8. Stechyshyn I. The quercetin containing drugs in pharmacological correction of experimental diabetes with myocardial injury / I. Stechyshyn, B. Pavliuk // Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases. – 2019. – Vol. 26. – No. 4. – P. 393–399.
9. Град А. О. Особливості структурної організації гемомікроциркуляторного русла жувального м'яза щура / А. О. Град // Вісник наукових досліджень. – 2017. – № 3. – С. 124–127.
10. Семенов К. А. Морфологическая характеристика височно-нижнечелюстного сустава у крыс, содержащихся на диете вивария (контрольная группа, часть 1) / К. А. Семенов, О. С. Решетникова // Инновации в стоматологии. – 2015. – № 2 (8). – С. 18–23.
11. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence / J. L. Harding, M. E. Pavkov, D. J. Magliano [et al.] // Diabetologia. – 2019. – No. 62 (1). – P. 3–16.
12. Moin M. Frequency of dental caries and level of risk among type II diabetics / M. Moin, A. Malik // Dentistry. – 2015. – 3000, No. 5. – P. 1–5.
13. Effect of diabetes on collagen metabolism and hypoxia in human gingival tissue: a stereological, histopathological, and immunohistochemical study / H. Balci Yuca, O. Karatas, F. Tulu, [et al.] // Biotechnic & Histochemistry. – 2019. – No. 94 (1). – P. 65–73.
14. Is there a relationship between oral health and diabetic neuropathy? / W. S. Borgnakke, P. F. Anderson, C. Shannon, A. Jivanescu // Current Diabetes Reports. – 2015. – No. 15 (11). – P. 93.

## REFERENCES

1. Kolesnyk, Y.M., Ivanenko, T.V., Abramov, A.V., & Kuzo, N.V. (2016). Current methods of the modeling of experimental diabetes mellitus type 2: a literature review. *Patologiya – Pathology*, 1 (36), 10-14.
2. Shandyba, I.O., & Loboda, A.M. (2017). Epidemiological features of type 1 diabetes mellitus in children of Sumy region. *Aktualni pytannia teoretychnoi ta klinichnoi medytsyny – Actual Issues of Theoretical and Clinical Medicine*, 429 [in Ukrainian].
3. (2016). Dovidnyk osnovnykh pokaznykiv diialnosti endokrynolohichnoi sluzhby Ukrainy za 2015 [Reference book of the main indicators of the endocrinology service in Ukraine in 2015]. *Endokrynolohiia – Endocrinology*, 21 (1), 40 [in Ukrainian].
4. Reha, N.I., Vasilenko, A.V., Reha, O.R., & Zoloty, Z.H. (2019). Standarty nadannia medychnoi dopomohy

## Експериментальні дослідження

- khvorym na tsukrovyy diabet medychnoiu sestroiu zahalnoi praktyky [Standards for providing medical care for patients with diabetes mellitus by a nurse of general practice]. *Medsestrynstvo – Nursing*, 1, 8-12 [in Ukrainian].
5. Jero, N. I. (2017). Oralni manifestatsii metabolichnoho syndromu i rol stomatoloha u svoiechasnii diahnostytsi ta likuvanni systemnoi patolohii [Oral manifestations of metabolic syndrome and the role of the dentist in the timely diagnosis and treatment of systemic pathology]. *Ukraina. Zdorovia natsii – Ukraine. The Health of the Nation*, 2, 136 [in Ukrainian].
6. Nidzelskyi, M.Ya., & Sokolovska, V.M. (2018). *Mekhanizmy formuvannia patolohichnoho prykusu [Mechanisms of formation of pathological occlusion]*. Poltava: FOP Bolotin A.V. [in Ukrainian].
7. Lunkova, Yu.S., Stupina, Yu.V., & Novikov, V.M. (2016). Osoblyvosti topografo-anatomichnykh i morfolohichnykh zmin elementiv SNSHCHS u patsientiv z odnostonnim ta dvostonnim vyvykhom suhlobovoho dyska za danymy MRT-doslidzen [Features of topographic-anatomical and morphological changes of TMJ elements in patients with unilateral and bilateral dislocation of the articular disc according to MRI studies]. *Ukrainskyi stomatolohichnyi almanakh – Ukrainian Dental Almanac*, 3 (2), 46-50 [in Ukrainian].
8. Stechyshyn, I., & Pavliuk, B. (2019). The quercetine containing drugs in pharmacological correction of experimental diabetes with myocardial injury. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*, 26 (4), 393-399.
9. Hrad, A.O. (2017). Osoblyvosti strukturnoi orhanizatsii hemomikrotsyrkulatornoho rusla zhuvalnoho miazha shchura [Peculiarities of structural organization of hemomicrocirculatory chewing muscle in rats]. *Visnyk naukovykh doslidzen – Bulletin of Scientific Researches*, 3, 124-127 [in Ukrainian].
10. Semenov, K.A., & Reshetnikova, O.S. (2015). Morfolohicheskaya kharakteristika visochno-nizhnechelyustnogo sustava u krysa, sodержashchikhsya na diete vivarii (kontrolnaya gruppa, chast 1) [Morphological characteristics of the temporomandibular joint in rats kept on a vivarium diet (control group, part 1)]. *Innovtsii v stomatologii – Innovations in Dentistry*, 2 (8), 18-23 [in Russian].
11. Harding, J.L., Pavkov, M.E., Magliano, D.J., Shaw, J.E., & Gregg, E.W. (2019). Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia*, 62 (1), 3-16.
12. Moin, M., & Malik, A. (2015). Frequency of dental caries and level of risk among type II diabetics. *Dentistry*, 3000, 5, 1-5.
13. Balci Yuce, H., Karatas, O., Tulu, F., Altan, A., & Gevrek, F. (2019). Effect of diabetes on collagen metabolism and hypoxia in human gingival tissue: a stereological, histopathological, and immunohistochemical study. *Biotechnic & Histochemistry*, 94 (1), 65-73.
14. Borgnakke, W. S., Anderson, P.F., Shannon, C., & Jivanescu, A. (2015). Is there a relationship between oral health and diabetic neuropathy? *Current Diabetes Reports*, 15 (11), 93.