

**YÜKSEK YAĞ DIYETİYLE DENEYSEL OBEZİTE OLUŞTURULAN RATLARDA DIŞ VE ÇEVRE DOKULARININ İNCELENMESİ
PİLOT ÇALIŞMA**

**EVALUATION OF TOOTH AND SURROUNDING TISSUES IN EXPERIMENTAL INDUCED
OBESE RATS WITH HIGH FAT INTAKE
A PILOT STUDY**

Burcu Baloş TUNCER* **Emre BARIŞ†** **Füsun Baloş TÖRÜNER‡** **Nurdan ÖZMERİÇ§**

ÖZET

Amaç: Aşırı kilo alımı ve obezite, tip 2 diyabet, hiperlipidemi, arteriyosklerozis, çeşitli dental ve periodontal hastalıklar için bir risk faktörüdür. Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak yüksek yağ diyetiyle beslenen ve obezite geliştirilen ratların diş ve çevre dokularında oluşabilecek histolojik değişiklikleri incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 12 erkek Wistar ratlar, gelişigüzel olarak iki gruba ayrıldı. Bir grup (A grubu) standart diyetle 28 gün beslendi. B grubu ise aynı sürede yüksek yağ içeren diyetle beslendi. Plazma glukoz konsantrasyonu, serum insulin, kolesterol and trigliserit düzeyleri deneysel periyodun öncesinde ve sonrasında ölçüldü. Histokimyasal boyama, diş ve çevre dokularının değerlendirilmesi için yapıldı.

Bulgular: B grubu ratlarda deney sonucunda obezite gelişti ve 4 hafta sonunda yağdan zengin diyetle beslendiğinde A grubuna göre %32 daha ağırdı. 4 haftalık diyet uygulamasından sonra, B grubu ratlarda glukoz ve lipid metabolizması belirgin şekilde değişti, fakat dental ve periodontal dokular açısından iki grup benzer histokimyasal özellikler göstermekteydi.

Sonuç: Bu çalışmamızda, 4 hafta süresince yüksek yağ diyetiyle beslenme sonucunda B grubu ratlar insüline direnç geliştirdi. Ağız içi dokularda, yüksek yağ diyetinin etkilerine karşı erken dönemde herhangi bir değişiklik izlenmedi.

Anahtar Kelimeler: Yüksek yağ diyeti, periodonsiyum, obezite, deneysel, rat

SUMMARY

Objective: Being overweight and obese are important risk factors for various diseases including type 2 diabetes, hyperlipemia, arteriosclerosis, dental and periodontal diseases. The aim of the study was to evaluate histochemically whether a high-fat diet has an impact on tooth and surrounding tissues in rats.

Material and Method: Twelve male Wistar rats were randomly divided into two groups. One group was fed with standard diet (A) and the other group (B) was fed with high fat diet for 28 days. Plasma glucose concentration, serum insulin, cholesterol and triglyceride levels were measured before and after experimental period. Histochemical staining was performed for evaluating teeth and periodontal tissues.

Results: B group rats developed obesity and became 32% heavier than A group. Although both groups demonstrated similar biochemical parameters at baseline, after 4 weeks, glucose and lipid metabolism changed in B group. However, both groups have similar histochemical findings in dental and periodontal tissues.

Conclusion: After 4 weeks of high-fat diet in our study suggesting that the rats in group B became insulin resistant. Oral tissues may withstand the effects of high fat diet at earlier periods.

Keywords: High fat intake, periodontium, obesity, experimental, rat.

Makale Gönderiliş Tarihi : 05.03.2007

Yayın Kabul Tarihi: 25.06.2007

* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı, Dr. Dt.

† Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı, Dr. Dt.

‡ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Doç. Dr.

§ Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

GİRİŞ

Aşırı kilo alımı ve obezite, tip 2 diyabet, hiperlipide-mi, hipertansiyon, arteriyosklerozis, kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar ve çeşitli dental ve periodontal hastalıklar için bir risk faktörüdür¹.

Tip 2 diyabetli hastaların %90'ı fazla kilolu veya obezdir, bu nedenle obezite önemli bir çevresel faktör olarak düşünülmelidir⁴.

Diyabetin, diş ve çevre dokularında neden olduğu değişiklikler birçok çalışmada irdelenmiştir. Deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda iltihabi infiltrasyonun yoğunluğunun fazla ve süresinin uzun olduğu, ve osteoklast sayı ve aktivitesinin daha fazla olduğu bildirilmiştir⁷. Rezorpsiyonu takiben yeni oluşan kemik formasyonunun da diyabetik ratlarda, normal ratlara göre 2.4 ile 2.9 kat fazla olduğu ortaya konulmuştur⁷. Tek doz olarak verilen streptozotocin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda mandibular gelişimin araştırıldığı bir çalışmada, vücut ağırlığındaki azalma ile birlikte, mandibular iskeletsel ünitelerde (simfiz, koronoid ve alveolar bölgelerde) yükseklikte azalma saptanmıştır. Diyabetik ratlarda mandibular gelişim, bütün olarak üç boyutta (uzunluk, yükseklik ve kaide uzunluğu), sağlıklı kontrol grubuna göre oldukça azalmıştır⁴. Alveolar kemik remodelasyonunun da diyabetin etkisiyle bozulduğu gösterilmiştir⁸.

Perlstein ve Bissada⁹, deneysel çalışmalarında, obez-hipertansif ratlarda daha şiddetli periodontal yıkım olduğunu göstermişlerdir. Bunların dışında obezitenin, diş çürükleri ile ilişkisini irdeleyen çalışmalarda, normal ağırlığa sahip bireylerin, kilolu bireylere göre daha az çürüğe sahip oldukları gösterilmiştir⁶.

Kraniyofasiyal bölgede normal büyüme gelişimi düzenleyen faktörler hormonlar, besinler, mekanik kuvvetler ve lokal olarak fonksiyon gören büyüme faktörleridir¹⁰. İyi bir metabolik kontrole sahip olan diyabetli hastalarda bu büyüme ve gelişim normal seyrinde gerçekleşeceğinden, ortodontik tedavi dahil tüm dental işlemler özel önlemlere başvurmadan uygulanabilir.

Ancak ender olarak izlense de, diyabete bağlı mikro-anjiyopati, periapikal damarlar çevresinde gelişebilir, ve bunun sonucunda dişde ağrı, perküsyonda hassasiyet, ve hatta dişde vitalite kaybı izlenebilir². Dişlere kuvvet uygulandığında bu durum gözönüne alınmalıdır.

Ortodontik tedavide, obezite ve buna bağlı olarak gelişen insülin direncinin olduğu bireylerde dokuların kuvveti karşılama kapasitesinin nasıl etkilenebileceğini bilmek tedavinin seyri açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak yüksek yağ di-

yetiyle beslenen ve obezite geliştirilen ratların diş ve çevre dokularında oluşabilecek histolojik değişiklikleri sağlıklı kontrollerle karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel işlemler, Gazi Üniversitesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı. 12 erkek Wistar ratlar, gelişigüzel olarak iki gruba ayrıldı. Bir grup (A grubu) standart diyetle 28 gün beslendi. Bu diyet %65 karbonhidrat, % 30 protein ve % 5 yağdan oluşuyordu. B grubu ise aynı sürede yüksek yağ içeren, %35 karbonhidrat, % 20 protein ve % 45 yağdan oluşan diyetle beslendi (D-12451, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA). Çalışma süresince ratların vücut ağırlıkları ve kan glukoz seviyeleri haftalık olarak ölçüldü. Dört haftalık periyod bittiğinde, ratlara, 4 saatlik bir açlıktan sonra Ketalar ile (Ketamin hidroklorür, 50 mg/ml, Eczacıbaşı) anestezi yapıldı. Kardiyak kan alındı ve santrifuj yapılarak serum ayrıldı, örnekler -80 derecede analiz gününe kadar saklandı.

Plazma glukoz konsantrasyonu, glukoz oksidaz metodu ile ölçüldü. Serum total kolesterol, trigliserid seviyeleri Aeroset sistemi kullanılarak ticari kitlerle saptandı (Abbott, USA). Serum insülin seviyeleri ise radyoimmünoasay yöntemi kullanılarak yine ticari rat kiti ile (Linco Research, St. Charles, MO, USA) analiz edildi.

HİSTOKİMYASAL İŞLEMLER

Her bir rat'ın maksilla ve mandibulasında yer alan kesici ve molar dişleri örneklenerek %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda tespit edildikten sonra, %10 formik asit solüsyonunda oda ısısında dekalsifiye edildi. Molar dişler labio-lingual ve mezio-distal yönde, kesici dişler ise yalnızca mezio-distal yönde kesit düzlemine gelecek şekilde kodlanarak parafin bloklara gömüldü. Her bir grup için 5 maksiler molar, 5 mandibuler molar, 5 maksilla anterior, 5 mandibula anterior dişe ait blok elde edildi. Her bir parafin bloktan 5 µ'luk kesitler alındı. Kesitler rutin hematoksilin-eozin boyamasının yanı sıra, bağ dokuya yönelik olarak Gomori's Retikülün ile Van Gieson trikrom histokimyasal boyaları ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz yöntemi, SPSS kullanılarak (Statistical Package for Social Science, version 10.0, Chicago, IL, USA) yapıldı. Bütün sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. Eşleştirilmiş student t-testi grup içi farklılığın gösterilmesinde, Mann-Whitney U testi ise gruplar arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde kullanıldı. Tüm analizler için P değeri < 0.05 olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Başlangıçta iki gruptaki ratlar benzer ağırlıktaydı. A grubu ortalama 218 ± 23 g ve B grubu 220 ± 25 g dı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$). B grubu ratlarda deney sonucunda obezite gelişti ve 4 hafta sonunda yağdan zengin diyetle beslendiğinde A grubuna göre %32 daha ağırdı (313 ± 29 ve 236 ± 23 g, $p < 0.01$).

Başlangıçta gruplar arasında serum glukoz, total kolesterol, trigliserid ve insulin seviyeleri arasında fark yoktu. 4 haftalık diyet uygulamasından sonra, B grubu ratlarda glukoz ve lipid metabolizması belirgin şekilde değişti (Tablo I).

Tablo I. Standart diyetle (Grup A) ve yağdan zengin diyetle (Grup B) beslenen ratlarda serum glukoz ve lipid değerleri

	Grup A	Grup B	p
Glukoz (mg/dl)	142 ± 16	207 ± 34	< 0.01
Total kolesterol (mg/dl)	56 ± 14	51 ± 3	> 0.05
Trigliserit(mg/dl)	76 ± 15	112 ± 23	< 0.01
Insülin (ng/ml)	4 ± 1	15 ± 4	< 0.01

HİSTOKİMYASAL BULGULAR

A ve B gruplarına ait olan tüm kesitlerde benzer histolojik görünüm izlendi.

Epitel Yapısı:

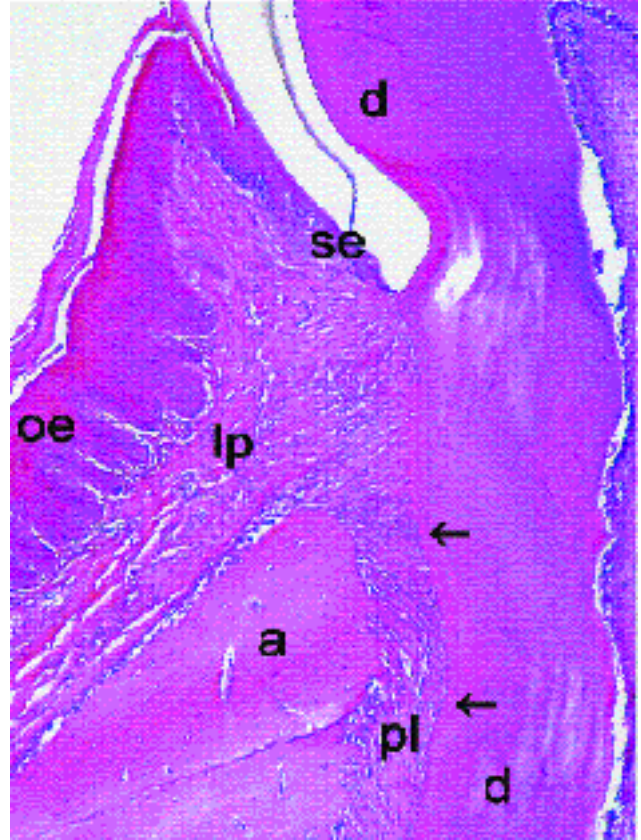
Oral epitel genel olarak hiperkeratinize, yuvarlak uçlu rete sonlanmaları gösteren çok katlı yassı epitel idi. Bir iki örnekte epitelde hafif akantozis bulunmaktaydı. Sulkuler epitel (gingival sulkus epiteli) ise örneklerin tamamında rete yapısı içermeyen, 8-10 hücre sıralı, mine-sement bileşkesine doğru gittikçe hücre kalınlığı azalan, non-keratinize çok katlı yassı epitel şeklinde izlendi (Resim 1 ve 2). Sulkuler epitelde apikale doğru migrasyon veya mine-sement bileşkesinden kök apikaline doğru yer değiştirme izlenmedi. Birkaç örnekte en son molar dişin distalinde yer alan sulkus epitelinde diğer bölgelere oranla keratin tabakasında hafif düzeyde kalınlaşmanın bulunduğu dikkati çekti.

Lamina Propria:

Lamina proprianın genel olarak ince kollajen liflerden oluştuğu ve konjese görünümde kapiller damarlar bulunduğu görüldü (Resim 2). A grubundaki iki örnekte hafif düzeyde kapillerler çevresinde mononükleer inflamatuvar hücre infiltrasyonu görüldü. Van Gieson boyamasında kollajenin matür yapıda olduğu izlendi (Resim 3 ve 5).

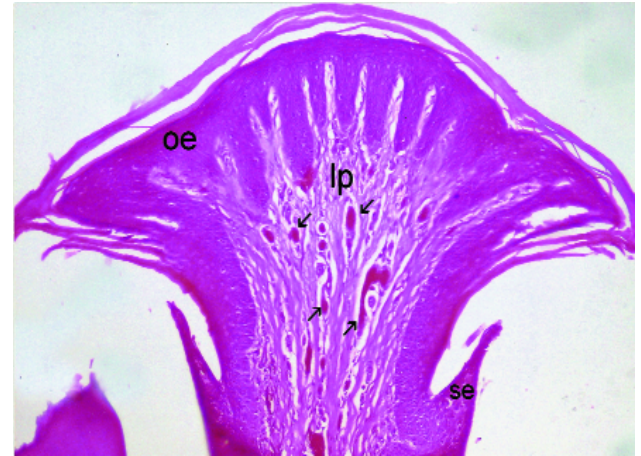
Alveol kemiği ve Periodontal Ligament:

Alveoler kemik trabeküller yapıdaydı. Lakünlerin periferinde yerleşim gösteren yuvarlak-oval nükleuslu osteositler içermekte ve belirgin osteoblastik çevrelenme göz-



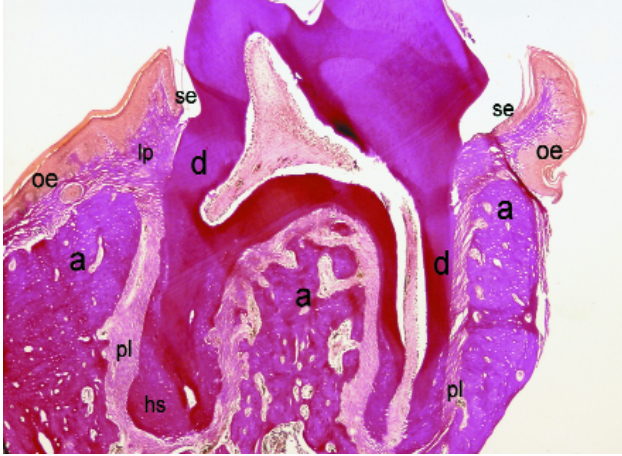
Resim 1: A grubuna ait molar dişte keratinize, belirgin rete yapıları bulunduran oral epitel (oe) devamlılığında, nonkeratinize rete formasyonu bulundurmayan sulkuler epitel (se). Kollajenize yapıdaki lamina propria (lp) ile bunun komşuluğundaki periodontal dokular. (a: alveoler kemik, d: dentin, pl: periodontal ligament, ok: hücresiz sement) (H&E x100)

termekteydi. Alveol kemiği ile sement arasında yer alan periodontal ligament ise genel olarak hücreden zengin,

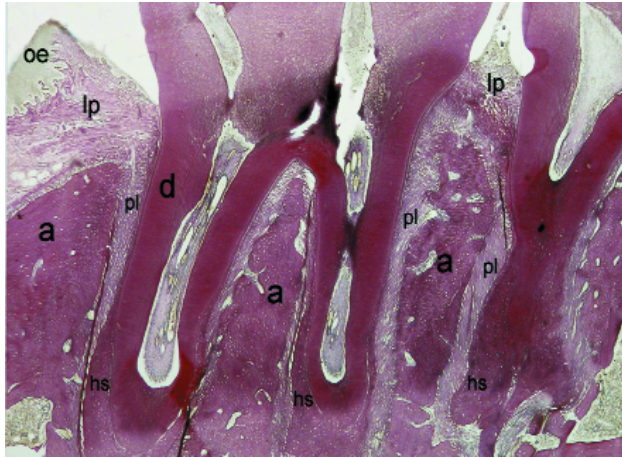


Resim 2: B grubuna ait keser dişlerin interdental diş eti papilinin histolojik görünümü. Keratinizasyon gösteren, belirgin rete yapıları bulunduran oral epitel (oe) altındaki kollajenize yapıdaki lamina propriadaki (lp) konjese kapillerler (ok). (H&E x100)

trikrom boyamasında koyu pembe (Resim 3), alveoler kemik ve sementle birleştiği bölgelerde ise retikülin fibrilleri de içeren kollajen liflerden oluştuğu görüldü (Resim 4). Periodontal aralığın alveol kemiğe yakın bölümüne yerleşmiş konjese kapiller damarların varlığı izlendi.



Resim 3: A grubuna ait molar dişin histolojik görünümü. Keratinize oral epitel (oe) ile non-keratinize sulkus epitel (se) altında kollajenize yapıdaki lamina propria (lp) devamlılığında daha ince kollajen liflerden oluşan periodontal ligament (pl) (a: alveoler kemik, d: dentin, hs: hücreli sement) (Van Gieson Tricrom x100)

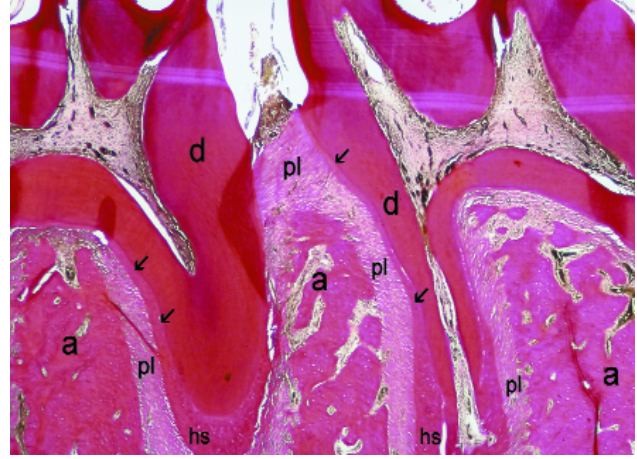


Resim 4: A grubuna ait molar dişte lamina propria (lp)'ya göre daha ince retiküler liflerden oluşan ve farklı yönlere uzanan periodontal ligament lifleri (pl) (a: alveoler kemik, d: dentin, hs: hücreli sement, oe: oral epitel.) (Gomori's Retikülin x40)

Sement:

Dişin kole bölgesinden kök apeksine kadar uzanan uniform yapıda sement dokusu izlendi. Sement dokusunun genellikle kökün 1/3 apikal bölümünden (üç örnekte ise kök orta üçlüsünden) itibaren poligonal şekilli nükleuslu, mineralize yapı içerisine gömülmüş olan sementositleri bulunduran hücreli sement yapısında olduğu görüldü

(Resim 3, 4 ve 5). Diş kökünü çevreleyen sement dokusunun, hemen komşuluğundaki sementoblastlar tarafından çevrelediği dikkati çekti. Sement dokusunda rezorpsiyon lehine bir bulgu saptanmadı.



Resim 5: B grubuna ait molar dişteki periodontal dokular (a: alveoler kemik, d: dentin, hs: hücreli sement, pl: periodontal ligament, ok: hücreli sement) (Van Gieson Tricrom x40)

TARTIŞMA

Yüksek yağ alımı, obezite ve insülin direncinin gelişimi için katkıda bulunan bir faktördür¹⁻¹³. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, 4 haftalık yüksek yağ içeriği olan diyetle beslenen normal erişkin ratlarda ağırlığın artması dışında, hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hipertrigliseridemi gelişmesi, bu ratların insülin direnci geliştirdiğini göstermektedir.

Diyabete bağlı kemik metabolizmasında, diş ve çevre dokularında görülebilecek değişiklikler, hem insanlarda hem de deneysel olarak hayvanlarda izlenmiştir. Fakat tarayabildiğimiz ölçüde literatürde bugüne kadar yüksek yağ diyetiyle oluşturulan obezite ve buna bağlı olarak gelişen insülin direncinin neden olduğu diş ve çevre doku değişiklikleri incelenmemiştir.

Bizim çalışmamızda, histokimyasal olarak A ve B grupları arasında diş ve çevre dokuların görünümü açısından fark saptanmamıştır. Hiçbir grupta alveol kemiğinde ve sement dokusunda rezorpsiyon izlenmemiştir. Sulkus epitelinde apikale doğru migrasyon saptanmamıştır. A grubundaki iki örnek dışında inflamatuvar infiltrasyon saptanmamış, bu iki örnekteki inflamasyon varlığı gingivitis lehine değerlendirilmemiştir. Ratlarda deneysel diyabet oluşturulan başka bir histolojik çalışmada, mandibular kemikte hızlı rezorpsiyon, kortikal kemik ve trabeküler kemikte düzensizlik ve vasküler proliferasyon saptanmıştır³.

Bu çalışmada deneysel diyabet streptozotocin enjeksiyonu ile oluşturmuş ve ratlarda kilo kaybına neden olmuştur. Benzer çalışmalarda da, streptozotocin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda plazma glukoz seviyesindeki artışla vücut ağırlığında azalma görülmektedir^{4,5,12}. Bizim çalışmamızda ise yüksek yağ diyeti hem kilo artışına hem de insülin direncinin eşlik ettiği hiperglisemiye neden olduğu için diş ve çevre dokuların, sağlıklı kontrollere benzer histolojik görünümüne sahip olmaları, oluşturulan metabolik bozukluğun her iki çalışmada farklı biyokimyasal ve immunolojik mekanizmaları tetiklemesiyle açıklanabilir.

Vücut ağırlığında azalma ile birlikte diyabet oluşturulan ratlarda, kemik formasyonu, femur bölgesinde % 96,5, diş soketinde ise % 75,9 oranında azalmış olarak saptanmıştır⁸. Bizim çalışmamızda alveolar kemik çevresinde belirgin osteoblastik aktivite izlenmiştir. Obezite ile gelişen hiperglisemik rat diş ve çevre dokularının değerlendirildiği çalışmamızın benzerine literatürde rastlanılmadığı için bulguların karşılaştırılması ancak kilo kaybının eşlik ettiği diyabetik ratlardaki bulgularla yapılabilmektedir. Mishima ve arkadaşlarının⁸ çalışmasında, alveolar kemikte daha az oranda kayıp izlenmesinin nedeni olarak femurun sistemik büyüme faktörünün etkisinde daha çok kaldığı, ayrıca alveolar kemiğin diş hareketleri ve mekanik stres gibi lokal faktörlerden daha çok etkilendiği gibi nedenlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda alveolar kemikte etkileneceğinin olmaması, vücuttaki diğer kemiklere göre farklı cevap kapasitesine bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Daha uzun süreli yüksek yağ diyetinin, kan glukoz düzeyindeki yükselmeye, alveol kemiği üzerine daha bariz bir etkisi olabilir. Ayrıca 4 haftalık inceleme süreci, diş ve çevre dokularda olası histopatolojik değişimlerin gelişmesi için erken bir süreç olabilir. Daha uzun süre uygulanan yağ içeriğinden zengin diyetle birlikte bu konunun ileriki deneysel çalışmalarda ve özellikle obez insan gruplarında epidemiyolojik olarak araştırılması faydalı olabilir.

Obezite geliştirilen ratlarda, dişlere ortodontik hareket uygulayarak oluşturulan mekanik stimülasyonun, diş ve çevre dokulara yapabileceği olası değişiklikleri değerlendirmenin, ilerideki araştırmalar için ilginç bir konu oluşturabileceği de düşünülmelidir.

KAYNAKLAR

1. Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract* 31: 27-35, 1996.
2. Bensch L, Braem M, Van Acker K, Willems G. Orthodontic treatment considerations in patients with diabetes mellitus. *Am J Orthod*

Dentofacial Orthop 123: 74-78, 2003.

3. Delilbaşı C, Demiralp S, Turan B. Effects of selenium on the structure of the mandible in experimental diabetics. *J Oral Sci* 44: 85-90, 2002.
4. Giglio MJ, Lama MA. Effect of experimental diabetes on mandible growth in rats. *Eur J Oral Sci* 109: 193-197, 2001.
5. Hough S, Avioli LV, Bergfeld MA, Fallon MD, Slatopolsky E, Teitelbaum SL. Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. *Endocrinology* 108: 2228-2234, 1981.
6. Larsson B, Johansson I, Hallmans G, Ericson T. Relationship between dental caries and risk factors for atherosclerosis in Swedish adolescents? *Community Dent Oral Epidemiol* 23: 205-210, 1995.
7. Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q, Graves DT. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res* 85:510-514, 2006.
8. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Arch Oral Biol* 47: 843-849, 2002.
9. Perlstein MI, Bissada NF. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 43: 707-719, 1977.
10. Pisano MM, Greene RM. Hormone and growth factor involvement in craniofacial development. *J Med Sci* 14: 635-640, 1986.
11. Saito T, Shimazaki Y. Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. *Periodontology* 2000 43: 254-266, 2007.
12. Shires R, Teitelbaum BL, Bergfeld MA, Fallon MD, Slatopolsky E, Avioli LV. The effect of induced chronic diabetes mellitus and bone mineral homeostasis in the rat. *J Lab Clin Med* 97: 231-240, 1981.
13. Storlien LH, James DE, Burleigh KM, Chisholm DJ, Kraegen EW. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. *Am J Physiol* 251: 576-583, 1986.
14. Weyer C, Berger M. Diet, exercise and self-monitoring of metabolic control. In: Turtle J, editor. *Diabetes in the new millennium*. Sydney (Austr): The Endocrinology and Diabetes Research Foundation of the University of Sydney: 1999, 179.

Yazışma adresi

Dr. Burcu Baloş Tuncer
Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ortodonti Anabilim Dalı
8.cadde 84. sokak 06510
Emek Ankara-Türkiye
Tel: 3122126220/335
e-posta: burcubalostuncer@yahoo.com