

بررسی رابطه میزان RANKL و OPG بزاق با بیماری پریدنتال در بیماران دیابتیک نوع I

دکتر محمود قاسمی^۱ - دکتر ماندانا ستاری^۲ - دکتر محمدابراهیم خمسه^۳ - دکتر سمیرا کاوی^۴

۱- دانشیار و مدیر گروه آموزشی پریدنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

۲- دانشیار و مدیر گروه آموزشی ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- دانشیار و رییس انستیتو غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- دندانپزشک

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات نسبت RANKL/OPG در بیماریهای متابولیک مختلف و نیز ارتباط بین دیابت و پریدنتیت توسط مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. هدف این مطالعه ارزیابی ارتباط بین غلظت بزاقی RANKL و OPG و پریدنتیت در بیماران با دیابت نوع یک می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه کلینیکی مورد - شاهدی متعاقب جمع آوری نمونه های بزاق تحریک نشده از پنجاه داوطلب شامل ۲۷ بیمار دیابتی نوع یک که از بین آنها ۱۲ نفر پریدنتیت داشتند و ۲۳ نمونه سالم از نظر سیستمیک که از بین آنها ۱۲ نفر دارای پریدنتیت بودند انتخاب و اندازه گیریهای کلینیکی پریدنتال ثبت شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمونهای Kruskal Wallis و Mann-Whitney U test و ضریب همبستگی Spearman انجام شد.

یافته ها: با وجودی که کمترین میزان غلظت RANKL و OPG و نسبت آنها در بیماران دیابتی بدون پریدنتیت مشاهده گردید، هیچ تفاوت آماری قابل ملاحظه ای بین RANKL و OPG و نسبت RANKL/OPG در بین چهار گروه مورد مطالعه دیده نشد، اما بین غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG همبستگی مستقیم آماری با مدت زمان ابتلا به دیابت ($P < 0/05$) وجود داشت. در مقایسه دو گروه مبتلا به دیابت (با و بدون پریدنتیت) تفاوت آماری قابل ملاحظه ای در غلظت OPG ($P < 0/05$) وجود داشت. همچنین در کلیه بیماران مبتلا به دیابت بین میزان از دست رفتن چسبندگی (CAL) و غلظت RANKL ($P < 0/01$) و CAL و نسبت RANKL/OPG ($P < 0/05$) همبستگی مستقیم آماری وجود داشت.

نتیجه گیری: با توجه به محدودیتهای مطالعه به نظر می رسد ارزیابی OPG نسبت به RANKL در بزاق افراد دیابتیک نوع یک می تواند به عنوان نشانگر میزان تخریب پریدنتال مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها: پریدنتیت مزمن - استئوپرونگرین - رنگ لیگامند - بزاق - دیابت

پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱۱/۴

اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۹/۱۴

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۳/۴

نویسنده مسئول: دکتر محمود قاسمی، گروه آموزشی پریدنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

e.mail:mahiran99@yahoo.com

مقدمه

آرتیریت روماتیت می گردد. در نقطه مقابل Osteoprotegerin (OPG) سیتوکائینی است که از تولید استئوکلاست جلوگیری می نماید. فعالیت RANKL توسط OPG کنترل می گردد، به صورتی که به RANKL متصل شده و از چسبیدن آن به گیرنده های سطحی ممانعت کرده و لذا از تخریب بیشتر استخوان جلوگیری می نماید. (۱)

RANKL (Receptor Activator for Nuclear Factor K B Ligand) مولکولی است که در متابولیسم استخوان بسیار حائز اهمیت می باشد. این مولکول طبیعی و لازم بر روی سطح استئوبلاست ها وجود داشته و باعث فعال شدن استئوکلاست ها می شود. تولید بیش از حد RANKL منجر به بروز بسیاری از بیماریهای دژنراتیو استخوانی مانند

دیابتیک نوع یک با بیماری پریودنتیت در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان فیروزگر تهران طراحی گردیده است.

روش بررسی

در این مطالعه کلینیکی مورد - شاهدهی تعداد ۲۷ داوطلب مبتلا به دیابت نوع یک مراجعه کننده به انستیتو غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، کلینیک تابان، انجمن دیابتی گابریک با پرسش و تأیید توسط پزشک متخصص غدد وارد مطالعه شدند. این بیماران به علاوه ۲۳ فرد مراجعه کننده به بخش پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی پس از توجیه طرح و کسب رضایت نامه به گروههای مبتلا به دیابت نوع یک (گروه مورد) و بدون ابتلا به دیابت نوع یک (گروه شاهد) تقسیم شدند. گروه مبتلا به دیابت نوع یک خود شامل دو گروه دارای پریودنتیت و بدون پریودنتیت و گروههای سالم از نظر سیستمیک نیز خود شامل دو گروه دارای پریودنتیت و بدون پریودنتیت بودند. نحوه انجام و شرایط مطالعه توسط شورای پژوهشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران مورد تأیید و تصویب قرار گرفت.

گروه مورد و شاهد از لحاظ جنس یکسان سازی شدند ولی به دلیل کمبود نمونههای مبتلا به دیابت، یکسان سازی کامل نمونهها از نظر سنی مقدور نبود. معیارهای ورود افراد به مطالعه شامل دارا بودن حداقل ۱۵ دندان، گذشت حداقل پنج سال از زمان تشخیص دیابت، عدم نیاز به پروفیلاکسی آنتی بیوتیک قبل از معاینات بود و شرایط خروج از مطالعه عبارت بود از مصرف آنتی بیوتیک و سایر داروهای مؤثر بر وضعیت پریودنشیوم در سه ماه اخیر، ابتلا به بیماری سیستمیک دیگر غیر از دیابت نوع یک تأثیر گذار بر پریودنشیوم، انجام درمان پریودنتال در شش ماه اخیر و مصرف سیگار.

پس از کسب رضایت نامه، ابتدا اطلاعات عمومی بیماران و سؤالات مربوط به معیارهای ورود و خروج از مطالعه جهت تأیید مجدد داوطلبان تکمیل گردید. سپس در صورت ابتلا به دیابت نوع یک اطلاعات مربوط به بیماری فرد از جمله مدت

بیماریهای پریودنتال، مجموعه‌ای از ضایعات عفونی و التهابی بوده که با افزایش موضعی و سیستمیک سایتوکاینهای پیش التهابی باعث تخریب بافت حمایت کننده دندان می‌گردند. از طرفی، مطالعات متعددی ارتباط بین دیابت و بیماری پریودنتال را به اثبات رسانده‌اند. (۲-۳) شواهد بیانگر این امر است که دیابت با کاهش کارایی PMNها، نظیر چسبندگی، کموتاکسی و فاگوسیتوز در روند تخریب پریودنتال اثرگذار است. (۴-۵)، شیوع دیابت در برخی جوامع مانند آمریکا تا ۵/۹٪ گزارش شده است. (۶)، همچنین نشان داده شده که چنانچه اقداماتی در زمینه پیشگیری و کنترل بیماری پریودنتال در افراد دارای دیابت صورت نگیرد، خطر از دست رفتن چسبندگی و تخریب استخوان تا دو برابر در مقایسه با افراد غیر دیابتیک افزایش می‌یابد (۷) بیماری پریودنتال نیز می‌تواند خطر کاهش کنترل قند را به میزان شش برابر به همراه داشته باشد. (۸)

Sudo و همکاران بیان کردند که در تنظیم فعالیت استئوکلاست‌ها و تخریب استخوان، تقابل سه عضو خانواده Tumor Necrosis Factor (TNF) شامل Receptor Activator of NF-KB Ligand (RANKL), RANK و OPG بسیار با اهمیت است. (۹)، RANKL عامل مهمی در تمایز، فعالیت و بقای استئوکلاست‌ها می‌باشد و در نقطه مقابل OPG در فرآیند تشکیل استخوان نقش دارد. (۱۰-۱۱)، در بیماری پریودنتال نسبت RANKL/OPG افزایش یافته (۱۲-۱۴) و در مطالعه‌ای نیز این افزایش در بیماران دیابتیک در بافت لثه‌ای نشان داده شده است. (۱۵)، ارزیابی این سایتوکاین‌ها در افراد دیابتیک غالباً در مایع شیار لثه‌ای (۱۴) و یا بافت لثه‌ای (۱۵) به انجام رسیده است. ارزیابی بزاق این نشانگرها تنها در افراد سیگاری دارای بیماری پریودنتال به انجام رسیده است. (۱۶)، با توجه به اینکه جمع آوری و ارزیابی بزاق بسیار آسانتر از انجام آن توسط شیار لثه‌ای بوده و این موضوع که مطالعه‌ای در این زمینه در افراد دیابتیک صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط میزان OPG و RANKL در بزاق افراد

به کل نواحی مشخص گردید. به دلیل محدودیت مکانی در ارزیابی میزان Clinical attachment loss از روش Partial mouth examination (۱۸) برای دو دندان قدامی، دو دندان پره مولر و دو دندان مولر هر فک و در شش نقطه مزو باکال، مید باکال، دیستوباکال، مزولیینگوال، میدلیینگوال و دیستولیینگوال از CEJ تا عمق پاکت محاسبه و ثبت شد.

جمع آوری اطلاعات مربوط به غلظت RANKL و OPG با روش ELISA توسط کارشناس ارشد ایمونولوژی انجام گردید. در مرحله آنالیز آزمایشگاهی، ابتدا نمونه‌های بزاق بعد از رسیدن به دمای اتاق به مدت چهار دقیقه با دور شش هزار برای رسوب دادن ترکیبات موجود در بزاق که نتیجه آزمایش را مخدوش می کنند، سانتریفیوژ شدند. سپس نمونه‌ها و استانداردها در چاهک‌هایی که قبلاً با آنتی بادی‌های RANKL و OPG در هر کیت، پوشیده شده بودند، توزیع گردیدند. مراحل کار طبق دستورالعمل هر کیت انجام شد و نهایتاً میزان جذب شده در هر چاه در طول موج چهار صد و پنجاه نانومتر خوانده شد و با توجه به آن غلظت RANKL و OPG نمونه‌ها تعیین گردید.

میزان sRANKL نمونه‌ها با استفاده از کیت Human sRANKL (total) ELISA مربوط به شرکت BioVendor ساخت جمهوری چک (Cat. No: RD193004200R) و میزان OPG نمونه‌ها با استفاده از کیت Human Osteoprotegerin Instant ELISA مربوط به شرکت Bender MedSystem ساخت کشور اتریش (Cat. No: BMS2021INST) اندازه‌گیری شد. سپس داده‌ها استخراج شده و تحت آزمونهای آماری قرار گرفت.

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد. برای مقایسه چهار گروه مورد مطالعه از نظر غلظت OPG و RANKL و نسبت RANKL/OPG از آزمون Kruskal Wallis و برای مقایسه دو به دو گروهها از Mann Whitney U-test استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از قبیل CAL, PPD, FBS و ... با غلظت OPG و RANKL و نسبت RANKL/OPG از ضریب همبستگی Spearman استفاده شد.

زمان ابتلا به دیابت، مصرف انسولین و مقادیر مربوط به HbA_{1c}, FBS, 2HPP با پرسش از بیمار و مشاهده برگه آزمایش وی وارد گردید. قبل از انجام معاینات دقیق پریودنتال، نمونه‌های بزاق جمع‌آوری گردید تا نتیجه آزمایشهای بزاق به واسطه آغشته شدن به خون مخدوش نگردد.

نمونه‌های بزاق به صورت یکسان جهت تمامی افراد با وضعیت ناشتا قبل از انجام آزمایشهای قند خون جمع‌آوری گردید برای جمع آوری نمونه بزاق از بیماران خواسته شد تا پس از یک بارشستشوی دهان، بزاق خود را به مدت ۱-۲ دقیقه در دهان نگه دارند. سپس از طریق سرنگ توپر کولین بزاق تحریک نشده کامل جمع آوری و پس از تقسیم نمونه‌ها به داخل میکروتیوپ‌های درب دار تا زمان انجام آزمایشهای نهایی ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰- درجه سانتی‌گراد و سپس در ۷۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. ضمناً به منظور اجتناب از تورش به نمونه‌ها کد داده شد تا نه انجام دهنده و نه مشاهده کننده نتایج آزمایشها هیچ گونه اطلاعی از ماهیت نمونه‌ها نداشته باشند.

معاینات پریودنشیوم انجام شده شامل شاخص پلاک (PI) O'leary (۱۷)، عمق پروبینگ (PPD)، ارزیابی میزان از دست رفتن چسبندگی کلینیکی (CAL) و خونریزی حین پروبینگ (BOP) بود. جهت ارزیابی شاخص پلاک از داوطلبان خواسته شد که قرص آشکارکننده پلاک را به مدت سی ثانیه جویده و بعد از یک بار شستشوی دهان، وجود یا عدم وجود پلاک در چهار ناحیه از هر دندان (مزو باکال، مید باکال، دیستو باکال و لینگوال) بررسی و شاخص پلاک هر فرد با جمع تعداد نواحی دارای پلاک (رنگ گرفته) تقسیم بر کل نواحی مورد ارزیابی (تعداد دندانها ضرب در چهار) ضرب در صد به صورت میانگین درصد به دست آمد. عمق پروبینگ در شش نقطه هر دندان (مزوباکال، مید باکال، دیستو باکال، مزولیینگوال، مید لینگوال و دیستو لینگوال) توسط پروب ویلیامز (Nordent) ارزیابی شد.

خونریزی حین پروبینگ با لمس دیواره داخلی سالکوس یا پاکت پریودنتال و به صورت درصد نواحی دارای خونریزی

یافته‌ها

در این مطالعه پنجاه داوطلب جهت ارزیابی غلظت بزاقی نشانگرهای بیماری پریودنتال مورد مطالعه قرار گرفتند. افراد بر اساس شاخصهای پریودنتال وجود و یا عدم وجود دیابت به گروههای مورد نظر تقسیم گردیدند تمام افراد دارای پریودنتیت در دو گروه با و بدون دیابت از شاخصهای پریودنتال بالاتری در مقایسه با افراد بدون پریودنتیت بودند که این امر از لحاظ آماری معنی دار بوده است. در جدول ۱ به ارائه شاخصهای آماری توصیفی افراد مورد مطالعه و پارامترهای پریودنتال مورد بررسی آنان پرداخته شده است.

در خصوص شاخصهای ارزیابی دیابت افراد نیز مشاهده گردید افراد دارای پریودنتیت از شاخصهای توصیفی و کنترل قند ضعیفتر و بالاتری برخوردار بوده و تی آزمون آماری این اختلاف را معنی دار ندانست. (جدول ۲)

جدول ۳ و ۴ نیز شاخصهای آماری توصیفی مربوط به غلظت RANKL، OPG و نسبت RANKL/OPG را نشان می‌دهد و بیانگر میزان بالاتری از Rankl و پایینتری از OPG در بزاق افراد دیابتیک و غیر دیابتیک دارای پریودنتیت در مقایسه با دو گروه دیگر بودند و نیز نسبت RANKL/OPG نیز در دو گروه ذکر شده بالاتر بود. آزمون آماری Kruskal-Wallis اختلاف بین چهار گروه را معنی دار ندانست. همان طور که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود، بین چهار گروه از نظر غلظت RANKL، غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد.

در ۲۷ فرد دیابتیک مورد بررسی ۱۱ نفر دارای قند خون کنترل نشده ($HbA_{1C} > 8$) و ده نفر از کنترل قند خون خوب ($HbA_{1C} < 7$) برخوردار بودند و آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را در رابطه با میزان 2HPP:FBS و HbA_{1C} بین این دو گروه مشاهده کرد. ($P < 0.001$) با این وجود میزان RANKL ($P < 0.045$) OPG ($P < 0.049$) و نسبت RANKL/OPG ($P < 0.054$) در بین دو گروه با کنترل قند نامطلوب و خوب از اختلاف آماری معنی‌داری برخوردار نبود.

با مقایسه دو به دوی گروههای مورد مطالعه تنها بین غلظت OPG آن هم بین دو گروه مبتلا به دیابت نوع یک با و بدون پریودنتیت اختلاف آماری معنی‌دار بود. ($P < 0.05$) با در نظر گرفتن دو گروه مبتلا به دیابت به عنوان یک گروه، بین نسبت RANKL/OPG و غلظت RANKL ($P < 0.001$)؛ $\beta = 0.677$ ، همچنین بین مدت زمان ابتلا به دیابت و نسبت RANKL/OPG ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.447$) و بین مدت زمان ابتلا به دیابت و غلظت RANKL ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.478$) آزمون Spearman همبستگی مستقیم مشاهده گردید و در مورد غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG همبستگی معکوس را نشان داد. ($P < 0.001$ ؛ $\beta = 0.829$) در حالی که در مورد FBS، HbA_{1C} و 2HPP با شاخصهای مورد نظر همبستگی آماری معنی‌دار نبود.

در مورد دوز انسولین صبحگاهی، دوز انسولین شبانه‌گاهی و دوز انسولین کلی و میزان RANKL، OPG و نسبت RANKL/OPG نیز هیچ همبستگی آماری وجود نداشت. در افراد مبتلا به دیابت نوع یک بدون پریودنتیت بین نسبت RANKL/OPG و غلظت RANKL به همبستگی آماری مستقیم ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.711$) و بین نسبت RANKL/OPG و غلظت OPG به همبستگی معکوس آماری برخورد شد. ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.649$)

در افراد مبتلا به دیابت نوع یک مبتلا به پریودنتیت نیز بین نسبت RANKL/OPG و غلظت RANKL به همبستگی مستقیم معنی‌دار ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.730$) و بین غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG به همبستگی معکوس آماری ($P < 0.001$ ؛ $\beta = 0.930$) برخورد شد.

در مورد همبستگی میان شاخصهای کلینیکی و سایتوکاین های مورد نظر تنها میان CAL و غلظت RANKL ($P < 0.01$)؛ $\beta = 0.725$ و CAL با نسبت RANKL/OPG ($P < 0.05$)؛ $\beta = 0.592$) آن هم در افراد مبتلا به دیابت دارای پریودنتیت به همبستگی مستقیم آماری برخورد شد. در ضمن بین میزان FBS و نسبت RANKL/OPG نیز به همبستگی مستقیم آماری معنی‌دار برخورد شد ($P < 0.05$ ؛ $\beta = 0.363$).

جدول ۱: شاخصهای آماری توصیفی در چهار گروه مورد مطالعه

متغیرها	سن	جنس	تعداد	عمق پروب	BOP	CAL	PI	گروهها
	میانگین $\pm$ انحراف معیار	مونث % مذکر %	دندانهای موجود	میانگین $\pm$ انحراف معیار	(%)	میانگین $\pm$ انحراف معیار	(%)	
سالم (n=۱۱)	۲/۹ $\pm$ ۲۶/۴	۵ (۵۴) ۶ (۵۴)	۲۸/۲ $\pm$ ۱/۷	۱/۸ $\pm$ ۰/۲	۰	۰	۶۶ $\pm$ ۷/۸	
پریودنتیت (n=۱۲)	۴۲/۸ $\pm$ ۱۰/۲	۵ (۴۲) ۷ (۵۸)	۲۲ $\pm$ ۵/۱	۳/۳ $\pm$ ۰/۳	۳۴/۸ $\pm$ ۱۶/۴	۲/۷ $\pm$ ۰/۹	۹۷/۶ $\pm$ ۵/۲	
دیابت ۱- پریودنتیت (n=۱۵)	۲۵/۱ $\pm$ ۴/۶	۸ (۵۳) ۷ (۴۷)	۲۸/۱ $\pm$ ۲	۲ $\pm$ ۰/۳	۰	۰	۸۸ $\pm$ ۹/۹	
دیابت ۱+ پریودنتیت (n=۱۲)	۳۷/۳ $\pm$ ۱۲/۹	۶ (۵۰) ۶ (۵۰)	۲۴/۱ $\pm$ ۴/۹	۳/۲ $\pm$ ۰/۵	۳۶/۹ $\pm$ ۳۱	۲/۲ $\pm$ ۱/۴	۱۰۰ $\pm$ ۰	
	P<۰/۰۲۱		P<۰/۰۶۱	P<۰/۰۱۴	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۴۲	

جدول ۲: شاخصهای آماری توصیفی مربوط به 2HPP, FBS, HbA₁C در گروههای مبتلا به دیابت نوع یک با و بدون پریودنتیت

متغیرها	HbA ₁ C	2HPP	FBS	گروهها
	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	
دیابت ۱ - پریودنتیت (n=۱۵)	۷/۴۵ $\pm$ ۱/۹۴	۱۷۷/۷۵ $\pm$ ۷۸/۵۶	۱۲۳/۸۵ $\pm$ ۴۰/۸	
دیابت ۱ + پریودنتیت (n=۱۲)	۷/۷ $\pm$ ۱/۷۸	۱۸۳/۹۱ $\pm$ ۹۱/۵۷	۱۸۳/۹۳ $\pm$ ۲۶/۱۰۵	
	P<۰/۰۶۷۴	P<۰/۰۷۴۹	P<۰/۰۵۴	

جدول ۳: شاخصهای آماری توصیفی مربوط به غلظت RANKL, OPG و نسبت RANKL/OPG در چهار گروه مورد مطالعه

متغیرها	RANKL (pmol/l)	OPG (pg/ml)	RANKL/OPG	گروهها
	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	
سالم (n=۱۱)	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۱۴	۱۱۸/۶۴ $\pm$ ۱۹۰/۲۹	۰/۰۲۱ $\pm$ ۰/۰۲۲	
پریودنتیت (n=۱۲)	۰/۹۴ $\pm$ ۰/۶۶	۷۲/۲ $\pm$ ۷۶/۸۹	۰/۰۲۵ $\pm$ ۰/۰۱۹	
دیابت ۱- پریودنتیت (n=۱۵)	۰/۵۱ $\pm$ ۰/۱۸	۵۸/۵۷ $\pm$ ۳۷/۵۳	۰/۰۱۲ $\pm$ ۰/۰۰۶	
دیابت ۱+ پریودنتیت (n=۱۲)	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۳۶	۶۲/۸۲ $\pm$ ۱۵/۲۵	۰/۰۳۱ $\pm$ ۰/۰۳	
	P<۰/۰۲۵۱	P<۰/۰۳۱۳	P<۰/۰۲۱۱	

جدول ۴: مقایسه چهار گروه مورد مطالعه از نظر غلظت RANKL، OPG و نسبت RANKL/OPG با استفاده از آزمون Kruskal Wallis

Asymp.Sig	df	Chi-square	میانگین رتبه	گروهها	
۰/۲۵۱	۳	۴/۰۹۷	۲۸/۰۵ (n=۱۱)	سالم	RANKL
			۳۱/۱۷ (n=۱۲)	پریودنتیت	
			۲۰/۵۱ (n=۱۵)	دیابت ۱ - پریودنتیت	
			۲۳/۷۱ (n=۱۲)	دیابت ۱ + پریودنتیت	
۰/۳۱۳	۳	۳/۵۶۴	۲۵/۲۳ (n=۱۱)	سالم	OPG
			۲۴/۹۵ (n=۱۲)	پریودنتیت	
			۲۹/۵۷ (n=۱۵)	دیابت ۱ - پریودنتیت	
			۱۹/۳ (n=۱۲)	دیابت ۱ + پریودنتیت	
۰/۲۱۱	۳	۴/۵۱۷	۲۵/۸۲ (n=۱۱)	سالم	RANKL/OPG
			۲۸/۴۲ (n=۱۲)	پریودنتیت	
			۱۹/۲۰ (n=۱۵)	دیابت ۱ - پریودنتیت	
			۳۰/۱۷ (n=۱۲)	دیابت ۱ + پریودنتیت	

در حالی که در مورد HbA_{1c} و 2HPP با شاخصهای مورد نظر به همبستگی آماری معنی‌دار برخورد نشد.

بحث

در مطالعه حاضر مقایسه میزان RANKL و OPG بزاق در دو گروه افراد دارای دیابتیک نوع یک و افراد غیر دیابتیک مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی متون موجود تنها به تعدادی اندک مقاله برخورد می‌شود که این سیتوکاین‌ها را در بزاق بیماران مورد بررسی قرار داده‌اند و این اولین مطالعه‌ای می‌باشد که نقش دیابت نوع یک را در غلظت این دو نشانگر در بزاق مورد ارزیابی قرار داده است. در تحقیقات روشهای مختلفی جهت جمع آوری بزاق مورد استفاده قرار گرفته که شامل تحریک غدد بزاقی توسط موم یا اسید سیتریک، جمع آوری بزاق غیر تحریک شده و به دست آوردن بزاق از غدد مترشحه خاص می‌باشد. بزاق دارای مایع شیار لثه‌ای، سلول‌های ایمنی و متابولیسم بافتی بوده و آیین‌های از شرایط داخل دهانی را منعکس می‌نماید. (۱۹)، در نقطه مقابل نشان داده شده که تحریک غدد بزاقی باعث

افزایش جریان مایع شیار لثه‌ای شده و در نتیجه باعث افزایش کاذب غلظت نشانگرهای موجود در بزاق می‌گردد. (۱۷)، به همین دلیل در این مطالعه نیز از بزاق غیر تحریک شده استفاده گردید. در این بررسی همان‌گونه که ذکر گردید به دلیل محدودیت مکانی و زمانی از Partial mouth examination استفاده گردید. با وجودی که این روش می‌تواند میزان واقعی تخریب در کل دهان را دچار تورش نماید، ولی از آنجایی که هدف تنها شناسایی افراد دارای پریودنتیت بوده، با این وجود شاخصهای پریودنتال افراد دارای پریودنتیت مقادیر بالاتر و معنی‌دار را نشان داد.

در مطالعه حاضر به دلیل عدم دستیابی به افراد دیابتیک با حداقل پنج سال سابقه دیابت و نیز وجود پریودنتیت، یکسان سازی افراد مورد مطالعه در خصوص سن میسر نگردید. در مطالعات مختلفی که حتی یکسان سازی سن نیز انجام گردیده بود، مدت زمان ابتلا به بیماری از همبستگی و ارتباط معنی‌داری برخوردار بوده است. Cerda و همکاران (۲۰) از مطالعه خود در افراد دیابتی نوع دو صراحتاً اظهار کردند که سال ابتلا به بیماری از سن به صورت معنی‌داری

در مورد همبستگی میان شاخصهای کلینیکی و سایتوکاینهای مورد نظر تنها میان CAL و غلظت RANKL و CAL با نسبت RANKL/OPG آن هم فقط در افراد دیابتیک مبتلا به بیماری پریودنتال به همبستگی مستقیم آماری برخورد شد. شایان ذکر است که بین چهار گروه مورد نظر از نظر غلظت RANKL، غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG اختلاف آماری معنی دار مشاهده نشد.

Duarte و همکاران در سال ۲۰۰۷ اظهار داشتند که میزان RANKL در گروه دیابتیک نوع یک در مقایسه با گروه کنترل سالم بالاتر بوده در حالی که غلظت OPG در این گروه کمتر از گروه سالم بوده است. همچنین گزارش کردند که در سایت های بیمار میزان mRNA مربوط به RANKL و OPG در گروه دیابتیک در مقایسه با غیر دیابتیکها پایینتر بود. ضمن آنکه نسبت RANKL/OPG را چه در گروه دیابتیک و چه در غیر دیابتیک های مبتلا به پریودنتیت در مقایسه با گروه کنترل بالاتر گزارش کردند. (۱۵)

علت اختلاف بین نتایج را شاید بتوان به اختلاف در ساختار دو تحقیق نسبت داد. در مطالعه فوق الذکر اقدام به اختیار کردن گروه دیابتیک بدون بیماری پریودنتال نشده است در صورتی که در مطالعه حاضر بعضی اختلافات یا همبستگیهای آماری با گروه دیابتیک بدون پریودنتیت بود و این امر خود می تواند باعث اختلاف میان یافته ها گردد. علت دیگر اختلاف بین یافته ها می تواند به نمونه مورد مطالعه مربوط باشد که در مطالعه حاضر اقدام به بررسی بزاق شد در حالی که در مطالعه فوق بیوپسی های بافت لثه مورد ارزیابی قرار گرفتند که با توجه به ساختار مولکولی کاملاً متفاوت این دو نمونه می تواند به نوعی در اختلاف میان نتایج اثر گذار باشد. از طرفی در یک نمونه بزاق کامل GCF اطراف کل دندانهای موجود در دهان فرد و سایتوکاین های ترشح شده به آن وجود دارد و مسلماً وضعیت پریودنشیوم اطراف کلیه دندانها یکسان نمی باشد. حال آنکه بیوپسی های تهیه شده به صورت Site specific و انتخابی از محل های

از اهمیت بالاتری برخوردار بوده است. این مطالعه نیز از همبستگی مدت زمان ابتلا به دیابت با میزان RANKL و نسبت RANKL/OPG حکایت کرده است.

در این مطالعه نشان داده شد که بین چهار گروه مورد مطالعه هیچ اختلاف آماری معنی داری از نظر غلظت RANKL، OPG و نسبت RANKL/OPG وجود نداشته، ولی مقایسه دو گروه مبتلا به دیابت نشان داد که تنها بین غلظت OPG اختلاف آماری معنی دار بود Miller و همکاران (۲۲) نشان دادند که میزان OPG در بزاق افراد دارای پریودنتیت در مقایسه با افراد سالم میزان بالاتری را نشان داده و این میزان با میزان خونریزی از لثه و تعداد پلاکت های عمیقتر از چهار میلی متر همبستگی مستقیم داشته است. با وجودی که RANKL و OPG در مایع شیار لثه ای قبلاً گزارش گردیده (۲۳-۲۵) و OPG نیز در بزاق نشان داده شده است (۲۲) ولی Frodge و همکاران (۲۶) از نتایج تحقیق خود بیان داشتند که شناسایی RANKL به صورت محلول در بزاق بسیار مشکل بوده و دلیل آن را نیز چنین بیان داشتند که این سایتوکاین در مقدار بسیار ناچیز در مایع شیار لثه ای و آن هم به صورت باند شده با OPG و یا RANKL یافت می گردد و لذا RANKL باند شده و یا صورت تخریب شده آن دلیل شناسایی سطح بسیار ناچیز آن در بزاق باشد و لذا این امر ممکن است دلیل عدم اختلاف آماری مشاهده شده در این مطالعه در خصوص RANKL بین افراد باشد. Buduneli و همکاران (۱۶) در بررسی میزان این نشانگرها در بزاق افراد سیگاری و غیر سیگاری نیز تنها میزان OPG و نسبت RANKL/OPG را بین دو گروه معنی دار یافتند و با آنکه میزان RANKL در افراد سیگاری بالاتر می بود ولی اختلاف آماری معنی دار یافت نشد.

در افراد دیابتیک مبتلا به پریودنتیت نیز بین نسبت RANKL/OPG و غلظت RANKL به همبستگی مستقیم معنی دار و بین غلظت OPG و نسبت RANKL/OPG به همبستگی معکوس آماری برخورد شد.

Samelson و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که میزان OPG پلاسما در افراد دیابتیک بالاتر از گروه کنترل است. (۲۹)

علت اختلاف ظاهری بین نتایج را می‌توان به نمونه مورد آزمایش و مشخص کردن نوع دیابت به تحقیق فوق نسبت داد، چرا که در تحقیق مزبور به روی نمونه‌های پلاسما مطالعه شده در حالی که این مطالعه روی نمونه‌های بزاق صورت پذیرفته است. ضمن آنکه در این بررسی نمونه‌های مبتلا به دیابت نوع یک مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. Xiang و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که در بیماران دیابتیک نوع یک تازه تشخیص داده شده میزان OPG بالاتر است و به دنبال درمان با انسولین کاهش می‌یابد. (۳۰)

با توجه به آنکه در بررسی حاضر تمام موارد دیابتیک تحت درمان با انسولین قرار داشتند لذا می‌توان این‌گونه اظهار داشت که بین نتایج تحقیق فوق و نتایج حاصل از این مطالعه به نوعی شباهت وجود دارد، چرا که در این بررسی میزان OPG در گروه مبتلا به دیابت پایینتر از گروه‌های دیگر بود. با اینکه این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

شایان ذکر است که با توجه به اینکه بر اساس منابع موجود تحقیقاتی بسیار اندکی در مورد ارتباط دیابت نوع یک و بیماری پریودنت و میزان RANKL و OPG موجود هستند، لذا امکان مقایسه بیشتر یافته‌های حاصل از این مطالعه با سایر تحقیقات امکان‌پذیر نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های به دست آمده از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری می‌شود که احتمالاً ابتلا به دیابت نوع یک باعث اختلال در میزان OPG و نسبت RANKL/OPG و لذا مستعد ساختن بیمار جهت ابتلا به بیماری پریودنتال می‌گردد، البته جهت حصول اطمینان از فرضیه فوق و تعیین نقش دقیق مصرف انسولین و یا دیابت نوع یک در ابتلا به پریودنتیت نیاز به انجام تحقیقاتی بیشتر و دامنه‌دارتر می‌باشد.

دارای پریودنتیت در دهان برداشته شده‌اند. همین مسئله در مورد مایع شیار لثه‌ای نیز صادق بوده و Mogi و همکاران (۱۲) و Vernal و همکاران (۱۴) گزارش کردند که نسبت RANKL به OPG در مایع شیار لثه‌ای و نیز میزان RANKL در نواحی فعال افزایش را نشان می‌دهد.

Singh و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که میزان OPG سرم در افراد مبتلا به دیابت نوع یک به مراتب کمتر از افراد سالم می‌باشد. (۲۷)

در مطالعه حاضر نیز با وجود آنکه به روی بزاق مطالعه شده، اما غلظت OPG در گروه دیابتیک نوع یک بدون بیماری پریودنتال از همه کمتر بود و بعد از آن پایینترین میزان OPG در گروه دیابتیک نوع یک مبتلا به پریودنتیت بوده است. غلظت OPG در بزاق افراد سالم تقریباً دو برابر افراد دارای دیابت نوع یک بدون پریودنتیت بود. با اینکه به اختلاف آماری معنی‌داری نبود. ضمن آنکه با در نظر گرفتن دو گروه مبتلا به دیابت نوع یک (با یا بدون پریودنتیت) به عنوان یک گروه واحد، باز هم به اختلاف آماری معنی‌دار از نظر غلظت OPG با گروه سالم برخورد نشد.

Lappin و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که در افراد مبتلا به دیابت نوع یک، غلظت OPG و غلظت Osteocalcin سرم بالاتر از افراد غیر دیابتیک است. اما نسبت RANKL/OPG آنها پایینتر است. همچنین اظهار داشتند که بسته به وضعیت پریودنتال بیمار نسبت RANKL/OPG تغییر پیدا می‌کند. آنها از تحقیق خود چنین نتیجه‌گیری کردند که افراد مبتلا به دیابت توانایی کمتری جهت ترمیم استخوان در جریان مراحل فعال یا تخریبی پریودنتیت دارند و عنوان کردند که این امر می‌تواند علت تشدید بیماری را در افراد مبتلا به دیابت توجیه کند. (۲۸)

علی‌رغم اختلاف میان نتایج از نظر غلظت OPG از سایر جنبه‌ها بین دو تحقیق تشابه زیادی وجود دارد، چرا که مطالعه حاضر با وجود مطالعه روی بزاق مشاهده می‌گردد که بین CAL و RANKL و همچنین بین CAL و نسبت RANKL/OPG، تنها در افراد مبتلا به دیابت دارای پریودنتیت، همبستگی آماری مستقیم وجود دارد.

REFERENCES

- Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. Rank ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Apr 1; 22(4):549-53.
- Hirschfeld I. Periodontol symptoms associated with diabetes. *J Periodontol.* 1934 Jan; 5(1):37.
- Gusberti FA, Syed SA, Bacon G, Grossman N, Loesche WJ. Puberty gingivitis in insulin-dependent diabetic children. I. Cross-sectional observations. *J Periodontol.* 1983 Dec; 54(12):714-20.
- Mc Mullen JA, Van Dyke TE, Horowitz HV, Genco RG. Neutrophil chemotaxis in individuals with advanced periodontol disease and a genetic predisposition to diabetes mellitus. *J Periodontol.* 1981. Apr; 52(4):167-73.
- Phair J. Neutrophil dysfunction in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med.* 1975 Jan; 85(1):26-33.
- Bethesda MD. Diabetes in America; No: 95. 2nd ed. USA: NIH publication; 1995; 1468.
- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE. Assessment of risk for periodontol disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol.* 1994 Mar; 65(3): 260-7.
- Greenberg M, Glick M, Ship J. Burket's oral medicines. 11th ed. Canada: Bc Decker; 2008, 509-519.
- Suda Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev.* 1999 Jun; 20(3):345-57.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al: Osteoprotegrin a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997 Apr 18; 89(2):309-19.
- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Goto M, et al. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone* 1999 Jul; 25(1):109-13.
- Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegrin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res.* 2004 Feb; 83(2):166-9.
- Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: Implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol.* 2007 May; 34(5): 370-6.
- Vernal R, Chaparro A, Graumann R, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J. Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol.* 2004 Dec; 75(12): 1586-91.
- Duarte, Neto, Casafani, Sallum. Diabetes modulates gene expression in the gingival tissue of patients with chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2007 Nov; 13(6): 594-9.
- Buduneli N, Biyikoglu B, Sherrabeh S, Lappin DF. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegrin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2008 , Oct 9;(35): 846-52.
- O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol.* 1972 Jan; 43(1):38.
- Vettore MV, Lamarca Gde A, Leão AT, Sheiham A, Leal Mdo C. Partial recording protocols for periodontal disease assessment in epidemiological surveys. *Cad Saude Publica.* 2007 Jan; 23(1):33-42.
- Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Sep 20 ; (694):72-7.
- Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem.* 1997 Jul; (34):412-21.

21. Cerda J, Vázquez de la Torre C, Malacara JM, Nava LE. Periodontal disease in non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). The effect of age and time since diagnosis. J Periodontol. 1994 Nov; 65(11):991-5.
22. Miller CS, King CP Jr., Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: A cross-sectional study. J Am Dent Assoc. 2006 Mar; 137(3):322-9.
23. Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. J Dent Res. 2004; Feb (83):166-69.
24. Vernal R, Chaparro A, Graumann R, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J. Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. J Periodontol. 2004; Dec (75):1586-91.
25. Lu HK, Chen YL, Chang HC, Li CL, Kuo MY. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2006; Aug (41):354-60.
26. Frodge BD, Ebersole JL, Kryscio RJ, Thomas MV, Miller CS. Bone Remodeling Biomarkers of Periodontal Disease in Saliva. J Periodontol. 2008; Oct (79):1913-19.
27. Singh DK, Winocour P, Summerhayes B, Viljoen A, Sivakumar G, Farrington K. Low serum osteoprotegerin levels in nomoalbuminuric type 1 diabetes mellitus. Acta Diabet. 2009 Sep 26.
28. Lappin DF, Eapen B, Robertson D, Young J, Hodge PJ. Markers of bone destruction and formation and periodontitis in type 1 diabetes mellitus. J Clin Periodontol. 2009 Aug; 36(8):634-41.
29. Samelson EJ, Broe KE, Demissie S, Beck TJ, Karasik D, Kathiresan S, Kiel DP. Increased plasma osteoprotegerin concentrations are associated with indices of bone strength of the hip. J Clin Endocrinol Metab. 2008 May; 93(5):1789-95.
30. Xiang GD, Sun HL, Zhao LS. Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients. Diabet Res Clin Pract. 2007 May; 76(2):199-206.