

УДК 616.311:616.858

МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Рувинская Г.Р.¹, Залялова З.А.²

¹ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Казань, guzelruv@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань, z.zalyalova@gmail.com

Проведен анализ микробиоценоза полости рта у 85 пациентов с болезнью Паркинсона. Показано качественное и количественное отличие состава микрофлоры у первичных пациентов с БП и у пациентов БП, получающих леводопу. Плотность высеваемости стрептококковой и стафилококковой флоры достоверно ниже с биотопов мягкого зубного налета при назначении препаратов леводопы. Частота и плотность высеваемости *Candida albicans* на дорсальной поверхности языка при леводопотерапии имеет обратную тенденцию - достоверно выше по сравнению с первичными пациентами. При анализе доминирующей условно-патогенной микрофлоры пародонтальных карманов показано, что чаще всего встречаются бактерии рода *Tannerella forsythensis* (обсемененность в 73,6% случаях), высеваемость *Prevotella intermedia* и *Porphyromonas gingivalis* составила 63,2%, *Acinobacillus actinomycetemcomitans* - 60,5%, реже всего высевалась *Treponema denticola* - в 55,3%, которая имела тенденцию к ассоциациям из 3-5 бактерий. Выявлена положительная корреляционная зависимость между «глубиной пародонтального кармана» и «частотой выявляемости пародонтопатогенных штаммов», $r=0,785$., однако не прослеживается между «степенью гигиены полости рта» и наличием в микробиоценозе этих представителей условно-патогенной микрофлоры.

Ключевые слова: микробный пейзаж полости рта, доминирующая условно-патогенная микрофлора, пародонтопатогенные штаммы микроорганизмов, леводопотерапия, болезнь Паркинсона

MICROBIAL LANDSCAPE OF THE ORAL CAVITY IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Ruvinskaya G.R.¹, Zalyalova Z.A.²

¹«Kazan State Medical Academy» the Ministry of Health of Russia, Kazan, guzelruv@mail.ru;

²«Kazan State Medical University» the Ministry of Health of Russia, Kazan, z.zalyalova@gmail.com

The analysis microbiocenosis of oral cavity in 85 patients with Parkinson's disease (PD) has been conducted. It is shown that qualitative and quantitative compositions of microflora are in contrast to primary patients with PD and PD patients receiving levodopa. The density of contamination of streptococcal and staphylococcal flora is significantly lower in biotopes with soft plaque in the appointment of levodopa. The frequency and density contamination of *Candida albicans* on the dorsal surface of the tongue has a reverse trend levodopoterapii - significantly higher than the primary patients. In the analysis of the dominant pathogenic microflora of periodontal pockets shown that the most frequent bacteria was the genus *Tannerella forsythensis* (contamination in 73.6% of cases), inoculation of *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* was 63,2%, *Acinobacillus actinomycetemcomitans* - 60,5%, the least likely *Treponema denticola* - sown in 55.3%, which tended to associations of bacteria 3-5. A positive correlation between the "depth of the periodontal pocket" and "frequency of detection of strains parodontopatogennyh», $r = 0,785$ was found, however, cannot be traced between the "degree of oral health" and in the presence of these representatives of conditionally-pathogenic microflora.

Keywords: microbial landscape of the oral cavity, dominant conditionally-pathogenic microflora, parodontopatogennic microorganisms, levodopa therapy, Parkinson's disease.

Одним из распространенных хронических прогрессирующих заболеваний, занимающее второе место по распространенности среди всех нейродегенеративных заболеваний, является болезнь Паркинсона (БП) [3]. Известно, что БП характеризуется медленным течением, для

патогенеза этого заболевания характерно нарушение функции дофаминергических нейронов, обеспечивающих контроль за движениями. Базисным препаратом, возмещающим дефицит дофамина, является препарат леводопа [7], назначаемый не всем пациентам БП, а только когда клинические моторные проявления приобретают дезаптирующий характер. Несмотря на то что диагноз базируется на обнаружении специфических двигательных нарушений, с увеличением продолжительности заболевания усиливаются как моторные, так и немоторные симптомы, которые могут быть как проявлением собственно БП, так и быть ассоциированы с побочным действием леводопотерапии. Это – сиалоррея, бруксизм, дисфагия, непроизвольные жевательные движения, ригидность жевательной мускулатуры и т.д., которые, усиливаясь, на более поздних стадиях болезни становятся ведущими в дезадаптации и снижении качества жизни. Результаты наших ранних работ, где изучалась распространенность стоматологических заболеваний при БП [4], показали, что при БП в 100% характерны воспалительно-деструктивные заболевания пародонта. Сложившуюся ситуацию мы могли объяснить тем, что таким пациентам затруднительно осуществлять гигиенический уход за полостью рта из-за тремора, ригидности и брадикинезии верхних конечностей, постуральных нарушений. Неудовлетворительное гигиеническое состояние полости рта всегда ведет к накоплению мягкого зубного налёта, формированию зубной бляшки. Также ранее проведёнными исследованиями показано, что отдельные представители микрофлоры полости рта могут находиться в так называемом «флотирующем состоянии». Но это состояние временное, затем идет этап формирования биоплёнки [1].

При хронических воспалительных заболеваниях пародонта при высокой патогенности возбудителя и слабых или недостаточных природных механизмах противoinфекционной защиты хозяина из-за какого-либо патологического процесса, развитие патологического биотопа может быть следствием развития самого инфекционного процесса. При этом тяжесть местного повреждения тканей способны определить условия для участия не только облигатно-, но и условно-патогенной микрофлоры [1].

Целью настоящего исследования явилось проведение микробиологического анализа полости рта у пациентов с болезнью Паркинсона.

Материалом исследования явился биоматериал 85 образцов мягкого зубного налёта, налёта с дорсальной поверхности языка, вестибулярной поверхности альвеолярного отростка в различных (фронтальных и дистальных) участках челюстей, пародонтальных карманов.

Для микробиологического исследования биоматериал взят у 47 пациентов с БП (в возрасте от 55 до 81 года). Пациенты, которые включались в исследование, находились на диспансерном наблюдении в РКД ЦЭПиБТ (Республиканский клинико-диагностический центр экстрапирамидной патологии и ботулинотерапии) МЗ Республики Татарстан. Пациенты были ранжированы на группы. В группу №1 (в количестве 15 человек) вошли первичные пациенты БП, которым препараты леводопы не назначались. Группу №2 (в количестве 32 человека) составили пациенты БП, принимающие препараты леводопы. У пациентов группы №1, брали мазок с дорсальной поверхности языка (N=8) и с пришеечной области зубов (N=7). У пациентов группы №2 брали мазок-отпечаток с дорсальной поверхности языка (N=17), с пришеечной области зубов (N=15). Забор материала осуществлялся натошак. Биоматериал собирали 2 стерильными одноразовыми тампонами, культивировали на плотные и полужидкие питательные среды в различных условиях (аэробных и анаэробных). Использовался 5% кровяной агар, среда Сабуро, Блаурокка, стрептококковый селективный и желточно-солевой агары, а также MRS агар и тиогликолевая среда. Верифицировали микроорганизмы морфологически, биохимически, биологически, количество полученных колоний микроорганизмов обозначали как КОЕ/там (было обследовано всего 47мазков-отпечатков). Полученные результаты были статистически обработаны, применяли пакет программ SPSS 13, критерий Стьюдента использовали для проверки нормальности распределений (различия считались достоверными при $p < 0,05$).

Биоматериал для определения условно-патогенных микроорганизмов в бактериозе полости рта при БП был взят у 38 пациентов с БП (18 мужчин, 20 женщин). Всем пациентам был диагностирован хронический генерализованный пародонтит (ХГП) различной степени тяжести (легкой, средней, тяжелой): определялся гигиенический индекс Грина-Вермильона, PI Russel для выражения тяжести деструктивного процесса (пародонтальный индекс по Расселу).

Забор материала для исследования осуществлялся также натошак: с пародонтальных карманов, вестибулярной поверхности альвеолярного отростка (фронтальные и дистальные участки) как верхней, так и нижней челюсти. Для этого брали стерильный абсорбционный штифт, помещали биоматериал в пробирку Eppendorf, содержащей комплект реагентов для выделения ДНК (Проба Рапид, ДНК-Технология, Россия) и выделяли пародонтопатогенные штаммы (*Acinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*) методом ПЦР и электрофореза (использовались 1,6 % агарозный гель; тест-системы MicroDent, "HainDiagnostica", Германия). Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе SPSS-14.0 для Windows с применением параметрических и непараметрических методов.

Результаты исследования

В результате обследования состояния полости рта и тканей пародонта у пациентов в группе №1 клинически диагностирован у 42% хронический генерализованный катаральный гингивит (тяжёлой степени тяжести) и ХГП (легкой степени тяжести), а у 58% пациентов – ХГП средней и тяжёлой степени тяжести.

При определении микробиологического анализа (количественного и качественного состава) бактериоза различных биотопов ротовой полости у лиц с БП выявлен умеренный рост пиогенного, β-гемолитического стрептококка серогруппы А (дорсальная поверхность языка - 3,8 lg КОЕ/там, частота встречаемости – 62, 5%; мягкий зубной налет – 3,5 lg КОЕ/там при частоте встречаемости – 57,14%). Стрептококки зеленящие были верифицированы в количестве 4,4 lg КОЕ/там (при частоте 62,5%) на поверхности языка и в зубном налете в количестве 4,8 lg КОЕ/там (при частоте 71,42%) ($p < 0,05$). Отметим, что бактерии рода *Streptococcus* являются доминирующей микрофлорой микробиоценоза полости рта, как области мягкого зубного налета, так и дорсальной поверхности языка.

Также в этой группе отмечен рост стафилококковой флоры.: в зубном налете - 4 lg КОЕ/там (при частоте встречаемости – 42,85%), а в 14,3% обнаруживался стафилококк эпидермальный – 5 lg КОЕ/там ($p < 0,05$). В отличие от дорсальной поверхности языка, где в 37,5% также обнаруживается стафилококк в 3 lg КОЕ/там ($p < 0,05$), а эпидермальный не верифицирован вообще.

Candida albicans высеяны на поверхности языка в 12,5% с плотностью 2 lg КОЕ/там, а в зубном налете высеяны с большей плотностью 4 lg КОЕ/там и у большего количества пациентов – 57,14% ($p < 0,05$).

В отличие от грибов рода *Candida*, клебсиелла чаще отмечалась на дорсальной поверхности языка (у 25% пациентов), чем в биосубстрате мягкого зубного налета (у 14,3% пациентов) ($p < 0,05$). Эта же тенденция прослеживалась и у *Neisseria flava*. А анаэробы микробного пейзажа – бифидобактерии – на дорсальной поверхности языка высеивались у 12,5% пациентов в 2 lg КОЕ/там, в мягком же налете больше – в 28,57% случаев при 3 lg КОЕ/там, ($p < 0,05$).

В группе № 2 (пациенты с БП, принимающих препараты леводопы) - в результате обследования их состояния полости рта и тканей пародонта у 84,4%, был диагностирован ХГП средней и тяжелой степени тяжести, что достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у первичных пациентов. Полная вторичная адентия в этой группе обследованных наблюдалась у 15,6% пациентов.

В данной группе больных, как в мягком зубном налете, так и на поверхности языка, были верифицированы те же виды представителей микрофлоры: стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, энтерококки, синегнойная палочка, но в меньшей степени обсеменённости (до 1,2-1,4 раз).

Интересная разница в контаминации прослеживалась при анализе обсемененности стафилококками: золотистый и гемолитический стафилококки в налете прослеживались в количестве 2 lg КОЕ/там только у 13,4% пациентов, в отличие от больных из группы №1 (там стафилококки встречались у 42,85% пациентов с более высокой плотностью) ($p < 0,05$). И на поверхности языка, где у 23,5% пациентов стафилококки отмечались с плотностью 2 lg КОЕ/там ($p < 0,05$), можно проследить ту же разницу по сравнению с группой №1 с первичными пациентами. Стафилококк эпидермальный не верифицирован в этой группе пациентов ни в микробиоценозе мягкого зубного налета, ни дорсальной поверхности языка.

Однако в изотопе зубного налета в небольших плотностях (1,5lg КОЕ/там) наблюдалась кишечная палочка, клебсиелла, нейсерии и только у 13,4% пациентов, на языке эти микроорганизмы прослеживалось у 17,64% пациентов, плотность которых составила 1,7 lg КОЕ/там. По сравнению с группой №1 отмечается та же динамика – уменьшение уровня колонизации.

Увеличение степени высеваемости отмечается в этой группе пациентов среди стрептококковой микрофлоры: β -гемолитический, пиогенный стрептококки встречались в зубном налете у 66,7% пациентов при 3,4 lg КОЕ/там, ($p > 0,05$). (в группе №1 – 57,14% с аналогичной плотностью). И на поверхности языка стрептококки были в таком же количестве, но с меньшей встречаемостью (у 58,8% пациентов, в группе №1 – 62,5%). Зелениящие стрептококки также встречаются реже, как в зубном налете (у 26,7 % пациентов, в отличие от группы №1 71,42%), так и в микробиоценозе языка (35,3% и 62,5% соответственно), а плотность одинакова.

У 26,7% пациентов с плотностью 2,25 lg КОЕ/там наблюдалась *Candida: albicans* в биотопах зубного налета (в группе №1 этот показатель составил 57,14% при 4 lg КОЕ/там), а у 41,18% с плотностью 2,85 lg КОЕ/там рост *Candida: albicans* выявлен в биотопах дорсальной поверхности языка (группа №1 – 12,5% при 2 lg КОЕ/там). Анаэробы типа бифидобактерии составили плотность 2-2,25 lg КОЕ/там в зубном налете у 28,7% пациентов, на языке у 29,4% пациентов (группа №1 – 3 lg КОЕ/там у 28,57% в мягком налете, на налете языка – у 12,5% в количестве 2 lg КОЕ/там).

В результате исследования выявлено, что в группе обследованных больных №2 в биосубстрате мягкого зубного налета достоверно снизилась высеваемость *Candida albicans*, и достоверно снизилась их плотность. Мы это можем объяснить тем, что при назначении препаратов левадопы уменьшается тремор и дискинезия конечностей [8], и гигиенический уход за полостью рта становится более адекватным.. Однако на дорсальной поверхности языка картина колонизации *Candida* другая: встречается она достоверно чаще у 41,18%, с плотностью 2,85 lg КОЕ/там. Может быть, это связано как с тем, что у данного контингента обследованных нет навыков гигиенического ухода за поверхностью языка, так и с особенностями состава потребляемой пищи (преобладание большого количества углеводов, молочнокислых продуктов в рационе) [6].

Исследуя уровень доминирующих условно-патогенных микроорганизмов полости рта у пациентов с БП, клинически было установлено, что у 8 пациентов диагностируется ХГП лёгкого течения (глубина пародонтального кармана – $2,4 \pm 0,6$ мм, индекс Грина-Вермильона составил в среднем $1,9 \pm 0,4$ балла, PI Russel $1,8 \pm 0,7$ балла). Это составило 21,1% от всех обследованных пациентов, у них пародонтопатогенные штаммы выделены не были.

У 11 пациентов выявлен ХГП средней степени тяжести (глубина пародонтального кармана – $4,8 \pm 1,3$ мм, индекс Грина-Вермильона в среднем $2,1 \pm 0,9$ балла, PI Russel - $3,6 \pm 1,2$ балла). В этой группе наблюдались следующие особенности колонизации пародонтопатогенными штаммами бактерий. В 10,5 % случаев (4 пациента) были выделены 2 условно-патогенных вида организмов (*Tannerella forsythensis* с *Prevotella intermedia*), в 18,4% (7 пациентов) - 3 вида организмов (*Acinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, или же *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia* и *Porphyromonas gingivalis*). Отметим, что *Tannerella forsythensis* у данных обследованных встречалась всегда. В 7,9% (3 пациента) верифицировались 4 вида патогенных микроорганизмов, в 42,1% (у 16 пациентов) определены все 5 видов пародонтопатогенных организмов. Клинически пациентам из этой группы был поставлен диагноз ХГП тяжёлого течения (глубина пародонтального кармана в среднем $6,9 \pm 2,1$ мм, индекс Грина-Вермильона составил $3,3 \pm 1,0$ балла, PI Russel – $3,6 \pm 0,9$ балла). Более того, у обследованных из двух последних групп зондировались фуркационные дефекты костной ткани как 2, так 3 классов, в основном в области моляров верхней и нижней челюсти. Итак, анализ качественного состава пародонтопатогенного биоценоза полости рта у пациентов БП определил доминирующую микрофлору пародонтального кармана – это бактерии *Tannerella forsythensis* (встречались почти у 73,6% пациентов). Степень высеваемости *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia* – 63,2%, а

Acinobacillus actinomycetemcomitans – 60,5%. *Treponema denticola* высевалась у 55,3% пациентов и только в ассоциациях из 3-5 бактерий.

В результате исследования микробного пейзажа биотопов полости рта установлено, что у первичных пациентов с БП и леводопу получающих пациентов с БП микрофлора отличается, как качественно, так и количественно. Микробная контаминация полости рта пациентов, как только они начинают принимать леводопу, уменьшается. Но необходимо отметить, что не получено корреляционной зависимости между степенью гигиены полости рта и наличием в микробиоценозе некоторых представителей условно-патогенной микрофлоры. С одной стороны, при назначении леводопотерапии у пациентов БП уменьшается тремор, ригидность, гипокинезия, что способствует нормализации гигиенического ухода за полостью рта; меняется компонентный состав потребляемой пищи, она становится разнообразной, в т.ч. и по консистенции, что, безусловно, активизирует жевательную мускулатуру, нормализуется слюноотделение, меняется микроэлементный состав слюны [5]. Но ранее проведенными исследованиями различными авторами показано, что существует зависимость, причем достоверная, между гигиеническим уровнем полости рта и картиной микробного пейзажа области пародонтальных карманов [2, 9]. Нами же выявлена сильная положительная корреляционная зависимость только между «глубиной пародонтального кармана» и «частотой выявляемости пародонтопатогенных штаммов», $r=0,785$. Несмотря на то, что мы регистрировали неудовлетворительный и плохой уровень гигиены полости рта у всех пациентов, включенных в исследование, частота выявляемости вышеуказанных штаммов пародонтопатогенной микрофлоры при этом была разной. В данном случае, все-таки имеет значение условия анаэробноза, всегда возникающие при наличии ХГП 2-3 степени с глубокими пародонтальными карманами, что является необходимой средой для вегетирования пародонтопатогенов [1, 8]. Данные, полученные нами в результате работы, необходимо использовать для обоснования назначения антибиотиков широкого спектра действия при лечении хронического генерализованного пародонтита, в том числе пациентов, отягощенных БП.

Список литературы

1. Афиногенов Г.Е., Афиногенова А.Г. Микробные биопленки РАН. Обзор литературы. // Профилактика today. – 2014. апрель (№ 17) – С. 17-22.

2. Гаврилова О.А. Микроэкология полости рта и ее роль в этиопатогенезе стоматологических заболеваний у детей с хроническим гастроуденитом: принципы комплексного лечения и профилактики: Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук/ О.А.Гаврилова. – Тверь, 2010. – 48 с.
3. Литвиненко И.В. Болезнь Паркинсона /И. В. Литвиненко. – М.: Из-во Миклош, 2006. – 216 с.
4. Рувинская Г.Р., Залялова З.А. Особенности стоматологической курации пациентов с болезнью Паркинсона // Российский стоматологический журнал. – 2012. - №6. – С. 30-32.
5. Рувинская Г.Р., Залялова З.А. Диагностическая ценность определения уровня микроэлементов в ротовой жидкости пациентов с болезнью Паркинсона // Врач-аспирант. – 2013. - №1.1 (56). – С.187-192.
6. Рувинская Г.Р., Мухамеджанова Л. Р., Баязитова Л.Т. Анализ количественного и качественного состава микробиоценоза различных биотопов ротовой полости у пациентов с болезнью Паркинсона. // Вестник Чувашского университета. – 2014. - №2. – С. 335-342.
7. Chondrogiorgi M Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease and potential risk factors for dyskinesia: a meta-analysis of levodopa-controlled trials./M. Chondrogiorgi, A.Tatsioni, H. Reichmann, S. Konitsiotis // Eur J Neurol. 2014 Mar; 21(3): 433-40.
8. Kishi M Prediction of periodontopathic bacteria in dental plaque of periodontal healthy subjects by measurement of volatile sulfur compounds in mouth air./ M/ Kishi, Y. Ohara-Nemoto, M.Takahashi, K. Kishi, S. Kimura, F.Aizawa, M.Yonemitsu//Arch Oral Biol. 2013 Mar;58(3):324-30.
9. Timmerman M. F Risk factors for periodontitis/M. F. Timmerman // International J. Dental Hygiene. – 2006. – Vol. 4, № 1. – P. 2-7.

Рецензенты:

Кабилова М.Ф., д.м.н., профессор кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа;
Ксембаев С.С., д.м.н., профессор кафедры детской стоматологии Казанского государственного медицинского университета, г. Казань.