

МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА С РАЗНОЙ ДАВНОСТЬЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Гарти Четри С., Михальченко В. Ф., Яковлев А. Т., Патрушева М. С., Старикова И. В., Попова А. Н.

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград, Россия (400131, Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1), e-mail: samir.gharti@gmail.com

Проведено микробиологическое исследование содержимого пародонтальных карманов у 52 больных сахарным диабетом 2 типа в возрасте от 45 до 59 лет с разной давностью течения заболевания. Показано, что в группе пациентов с длительностью сахарного диабета более 10 лет микрофлора была непостоянной, преобладали микроорганизмы, стимулирующие факторы патогенности, а микрофлора, обладающая антагонистическим действием к патогенной и условно-патогенной микрофлоре встречалась реже. У пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом микрофлора также отличалась от нормальной, однако была более стабильной. В обоих случаях отмечено снижение защитной и регуляторной функций микрофлоры. Микробиологический дисбаланс при заболеваниях пародонта увеличивает бактериальную нагрузку, которая активизирует воспалительные процессы, в конечном счете, вызывая резистентность к инсулину.

Ключевые слова: пародонтит, сахарный диабет 2 типа, пародонтальный карман, микрофлора.

PERIODONTAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH DIFFERENT DURATION OF TYPE II DIBETES MELLITUS

Gharti Chhetri S., Mihalchenko V. F., Yakovlev A. T., Patrusheva M. S., Starikova I. V., Popova A. N.

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia (400131, Pavshikh Bortsov Square), e-mail: samir.gharti@gmail.com

A microbiological analysis of periodontal microbiota in 52 patients aged 45 to 59 years with a different duration of type 2 diabetes mellitus was carried out. Bacterial diversity was higher in periodontal patients with diabetes duration of more than 10 years. Microbiota that promote pathogenicity factors was prevailed and taxa having antagonistic activity to pathogenic and conditionally pathogenic types were identified rarely. In patients with newly diagnosed diabetes microbiota was also different from normal, however, it was more stable. In both cases there was a decrease of protective and regulatory functions of subgingival microbiota. Microbiological imbalance in periodontal diseases increases bacterial load that activates inflammatory processes, ultimately causing insulin resistance.

Keywords: periodontal disease, diabetes mellitus type II, periodontal pocket, microbiota.

На сегодняшний день не вызывает сомнения существование связи между сахарным диабетом и возникновением заболеваний пародонта. Широко распространено и клинически подтверждено мнение о том, что у больных сахарным диабетом заболевания пародонта прогрессируют значительно быстрее, характеризуются более тяжелым и агрессивным течением. Однако существует и обратная зависимость. Многочисленные данные свидетельствуют о развитии инсулинрезистентности на фоне метаболических нарушений, в том числе сахарного диабета. Было высказано предположение, что изъязвленный эпителий пародонтального кармана является входными воротами для проникновения бактерий и медиаторов воспаления в системный кровоток.

Хорошо васкуляризированные ткани пародонта в условиях воспаления являются мощным источником провоспалительных цитокинов, в частности IL-1 β , IL-6 и TNF- α ., оказывающих влияние на уровень глюкозы, метаболизм жиров и чувствительность к инсулину [2,3,4,5].

Кроме того, по данным литературы, в крови больных хроническим генерализованным пародонтитом обнаруживались микроорганизмы – представители микрофлоры десневого кармана.

Таким образом, микробиологический дисбаланс при заболеваниях пародонта увеличивает грамотрицательную бактериальную нагрузку, которая активизирует воспалительные процессы, в конечном счете, вызывая резистентность к инсулину [1,6,7].

Цель исследования: оценить состояние микробиоценоза пародонтальных карманов у больных сахарным диабетом 2 типа с разной давностью течения заболевания.

Материалы и методы. В ходе работы было проведено микробиологическое исследование содержимого пародонтальных карманов у 52 больных с хроническим генерализованным пародонтитом лёгкой степени тяжести, протекающим на фоне сахарного диабета 2 типа с разной длительностью сопутствующего заболевания в возрасте от 45 до 59 лет. В 1-ю группу (24 человек) были включены пациенты с впервые диагностированным сахарным диабетом, 2-ю группу (28 человек) составили лица с длительностью заболевания свыше 10 лет.

Материал для микробиологических исследований брали через 2–3 часа после еды стерильными тампонами со слизистой оболочки маргинальной десны. Тампоны погружали в транспортную среду Amies и транспортировали в лабораторию. Задачей микробиологических исследований являлась идентификация микроорганизмов в исследуемом материале, определение их видовой принадлежности. В качестве питательных сред использовали искусственные плотные элективные, селективные (Эндо, Плоскирева, Хоттингера, Мак-Конки и др.), дифференциально-диагностические (кровяной агар, мясопептонный, Кларка, Сабуро и др.) и жидкие питательные среды (бульон Хоттингера, мясопептонный бульон). Нативный материал дополнительно исследовали под световым микроскопом, используя специальные и дифференцирующие методы окраски (по Граму, Цилю-Нильсену, синькой Леффлера). Для идентификации серологическим методом использовали классическую серологическую реакцию агглютинации на стекле и в пробирках.

Результаты и обсуждение. У больных хроническим пародонтитом в полости рта развиваются дисмикробиозы и существенные изменения в составе нормальной микрофлоры.

При пародонтите роль резидентной микрофлоры в поддержании постоянства биоценоза снижается, увеличивается частота встречаемости транзиторной микрофлоры и значимость условно-патогенных представителей.

Развитию пародонтита предшествуют дисбиотические процессы в полости рта, обусловленные перестройкой аэробной аутохтонной микрофлоры, и проявляющиеся увеличением числа условно-патогенных микроорганизмов, имеющих высокие показатели факторов вирулентности.

Согласно результатам проведенного нами микробиологического исследования, микрофлора пародонтальных карманов пациентов с давностью течения сахарного диабета более 10 лет была более разнообразной, по сравнению с группой пародонтологических больных с впервые выявленным сахарным диабетом.

У пациентов 1-ой группы микробный пейзаж в большинстве случаев был представлен преимущественно грибами рода *Candida*, коринебактериями, представителями анаэробной микрофлоры: *Treponema ssp.* и *Actinomyces ssp.*, а также бактериями – трансбионтами-*Sarcina tetr.* Во 2-ой группы помимо этих микроорганизмов обнаруживался также гемолитический стрептококк, микрококки, *Str. salivarius*, в единичных случаях в содержимом пародонтальных карманов определялась *E. coli* в качестве бактерий-трансбионтов. Однако у всех пациентов с давностью течения сахарного диабета более 10 лет частота встречаемости представителей анаэробной микрофлоры: *Treponema ssp.* и *Actinomyces ssp.*, а также коринебактерий была ниже, чем в 1-ой группе, в то время как грибы рода *Candida* в различных количествах обнаруживались у 100 % пациентов 2-ой группы

Так, у пациентов обеих групп обследования отмечалась высокая обсемененность пародонтальных карманов *S. aureus*, которая составила в 1-ой группе - $2 \cdot 10^1 \pm 36,83$ КОЕ/л, во 2-ой группе - $3,0 \cdot 10^1 \pm 45,22$ КОЕ/л без достоверных различий между группами.

Встречаемость этого микроорганизма составила в 1-ой группе 50 %, во 2-ой группе – 42,9 %.

S. aureus является условно-патогенным микроорганизмом, колонизирующим слизистые оболочки. Факторами патогенности возбудителя является микрокапсула, компоненты клеточной стенки, адгезины, ферменты агрессии и токсины, стимулирующие развитие воспалительных реакций, усиливающие синтез ИЛ-1 макрофагами, активирующие систему комплемента.

Гемолитический стрептококк обнаруживался у 57,1 % пациентов 2 группы, причем в больших количествах – $1,46 \cdot 10^4 \pm 35512,77$ КОЕ/л. У пациентов 1-ой группы данный микроорганизм не обнаруживался.

Патогенетическая роль *S. haemoliticus* заключается в синтезе ферментов: стрептолизина, гиалуронидазы и НАДазы, а также экзотоксинов. Стрептолизин вызывает лизис клеток, а также активирует лейкоциты и эндотелиальные клетки к продукции цитокинов, играющих важную роль в генерализации воспаления. Гиалуронидаза вызывает разрушение гиалуроновой кислоты, составляющей матрикс соединительной ткани. НАД-аза непосредственно влияет на лейкоциты, ослабляя их способность к таксису и фагоцитарную активность.

Экзотоксины активируют кининовую систему, что приводит к нарушению тонуса сосудистой стенки и повышению проницаемости сосудов. Кроме того, они подавляют синтез антител.

Указанные факторы агрессии, помимо стимуляции воспалительной реакции как на местном, так и на системном уровне, могут приводить и к деструкции тканей пародонта.

Род *Veillonella* один из количественно доминирующих обитателей полости рта. Вейлонеллы – это облигатно-анаэробные грамотрицательные мелкие коккобактерии, хорошо ферментируют кислоты, нейтрализуют кислые продукты метаболизма других бактерий, являясь важнейшим фактором кариесрезистентности. Согласно результатам проведенного нами микробиологического исследования вейлонеллы в содержимом пародонтальных карманов пациентов обеих групп обследования не обнаруживались, что является проявлением дисбиотических нарушений в полости рта и, возможно, обуславливает высокую распространенность и интенсивность кариеса у обследуемых лиц на фоне снижения кариесрезистентности.

Патология пародонта сопровождается снижением обсемененности полости рта другим представителем резидентной микрофлоры *S. salivarius*. По нашим данным, у пациентов 1-ой группы *S. salivarius* в пародонтальных карманах не обнаруживался, во 2-ой группе его частота выделения составила 57,1 % (среднее количество $1,71 \cdot 10^2 \pm 347,33$ КОЕ/л). *Трепонета ssp.* присутствует в полости рта у взрослых с нормальной зубочелюстной системой, но также является важнейшим представителем пародонтопатогенной микрофлоры. Данный микроорганизм может быть вовлечен в пищевые цепочки с другими микроорганизмами. Фузоспирохетные симбиозы обладают высокой степенью патогенности. *Трепонета ssp.* обнаруживалась у 83,3 % пациентов 1-ой группы и 57,1 % пациентов 2-ой группы и хотя в 1-ой группе микроорганизм обнаруживался чаще, средние количества достоверно не отличались: в 1-ой группе – $5,33 \cdot 10^1 \pm 47,79$ КОЕ/л, во 2-ой группе – $3,14 \cdot 10^1 \pm 44,37$ КОЕ/л ($p > 0,05$).

Как и трепонемы, *Prevotella ssp.* являются потенциальными возбудителями одонтогенной инфекции. Бактерии данной группы *invitro* способны продуцировать факторы

агрессии: коллагеназу, гиалуронидазу, хондроитинсульфатазу, гепариназу и др. Таким образом, отсутствие *Prevotella* ssp. в содержимом пародонтальных карманов у пациентов обеих групп является благоприятным признаком.

Actinomyces ssp. – грамположительные неспорообразующие палочки, составляют основу зубной бляшки, за счет адгезии к ним фиксируются другие симбионты. Способны ферментировать углеводы с образованием лактата, уксусной, муравьиной, янтарной кислот, обладающих выраженным кариесогенным действием. Обладают высокой коммуникативной активностью, способствуют колонизации полости рта пиогенными кокками, фузобактериями и т.д. Выделяются как в норме, так и при патологии полости рта из кариозных полостей, пародонтальных карманов, очагов хронического воспаления на слизистой оболочке. Высеваемость *Actinomyces* ssp. в 1-ой группе составила 83,3 % пациентов, во 2-ой группе она была значительно ниже – 14,2 %. Обсемененность пародонтальных карманов в 1-ой группе также была достоверно выше, чем во 2-ой : $3,83 \cdot 10^1 \pm 44,69$ КОЕ/л и $1,43 \cdot 10^1 \pm 35,63$ КОЕ/л соответственно ($p < 0,05$).

Как уже говорилось, в процессе формирования микробиоценоза, микроорганизмы взаимно влияют друг на друга, обуславливая развитие коммуникативных взаимоотношений различной направленности: индифферентных, антагонистических или синергидных.

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что высокая активность *Actinomyces* ssp. у пациентов 1-ой группы связана с жизнедеятельностью другого микроорганизма – *Corynebacterium*, т.е. является примером реализации синергидных взаимоотношений в биоценозе.

Коринебактерии (*Corynebacterium*) играют важную роль в полости рта как стабилизирующий фактор орального микробиоценоза, так как синтезируют витамины, в частности, витамин К, являющийся стимулятором роста анаэробных бактерий. Потребляя в процессе дыхания молекулярный кислород, они содействуют развитию облигатно-анаэробной микрофлоры в аэробных условиях, в том числе это способствует размножению *Actinomyces* ssp, являющихся облигатными анаэробами. Также имеются данные об ассоциации коринебактерий с возбудителями гнойного воспаления.

Частота встречаемости и обсемененность пародонтальных карманов *Corynebacterium* в 1-ой группе была достоверно выше, чем во 2-ой. В первой группе коринебактерии обнаруживались у всех пациентов – 100 % в среднем количестве $2,35 \cdot 10^2 \pm 351,08$ КОЕ/л, а во 2-ой группе – лишь у 28,5 % ($1,57 \cdot 10^1 \pm 35,22$ КОЕ/л) ($p < 0,05$).

Стабилизирующая роль коринебактерий может быть как положительной, так и отрицательной. С одной стороны, они способствуют стабилизации нормобиоценозов, а с другой – возможно закрепление и патологических вариантов. Кроме того, коринебактерии

нередко образуют ассоциации с возбудителями гнойного воспаления, синтезируя ферменты агрессии.

Вероятно, именно высокая активность и стабилизирующая функция *Corynebacterium* и в 1-ой группе обуславливает меньшее разнообразие микрофлоры пародонтального кармана и четкое превалирование определенных видов микроорганизмов, т.е. большую стабильность сформировавшегося биоценоза

Представители непостоянной микрофлоры полости рта – бактерии-транзбионты, обнаруживаются, как правило, в очень незначительных количествах и в короткие периоды времени.

К непостоянным микроорганизмам полости рта относятся эшерихии, в том числе *E. coli* (кишечная палочка) – представитель микрофлоры кишечника, обладающий выраженной ферментативной активностью, в полости рта не патогенна.

E. coli у пациентов 1-ой группы не обнаруживалась, во 2-ой группе она определялась в 14,2 % случаев в незначительном количестве – $0,14 \cdot 10^1 \pm 3,56$ КОЕ/л.

Sarcina tetr. – грамположительные спорообразующие кокки, в полости рта также не патогенны, представители нормальной микрофлоры желудка. Их присутствие в полости рта, так же как и *E. coli*, носит транзитный характер. Увеличение обсемененности этими микроорганизмами отмечается, как правило, на фоне общего ослабления организма.

Частота обнаружения *Sarcina tetr.* в содержимом пародонтальных карманов у пациентов обеих групп была достаточно высокой: данный микроорганизм обнаруживался у 83,3 % пациентов первой и 57,1 % пациентов второй групп. Средняя обсемененность в обеих группах достоверно не различалась: $3,83 \cdot 10^1 \pm 44,69$ КОЕ/л и $4,43 \cdot 10^1 \pm 49,25$ КОЕ/л в 1-ой и 2-ой группах соответственно.

Состояние биоценоза пародонтального кармана больных сахарным диабетом 2 типа характеризовалось частым обнаружением *Candida ssp.* Так, у пациентов 1-ой группы грибы рода *Candida* обнаруживались у 66,7 % пациентов, а во 2-ой групп – у 100 %. Следует отметить, что в первой группе у 33,33 % пациентов (8 человек) обсемененность пародонтальных карманов *Candida ssp.* составляла 10^1 КОЕ/л, и у 33,33 % пациентов (8 человек) – 10^2 КОЕ/л, что расценивалось как носительство. Во 2-ой группе у 28,57 % пациентов (8 человек) *Candida ssp.* обнаруживалась в количестве 10^1 КОЕ/л, у 42,86 % (12 человек) – 10^2 КОЕ/л, и у 28,57 % диагностировался кандидоз – 10^3 КОЕ/л и выше.

Факторы патогенности *Candida ssp.* являются малоизученными. Предположительно, пародонтопатогенное влияние дрожжеподобных грибов, колонизирующих пародонтальный карман, реализуется в синергизме с пародонтопатогенной микрофлорой, образуя микст-

паразитоценоз, обуславливающий снижение противомикробной и противогрибковой защиты тканей пародонта и торпидность течения воспалительно-деструктивного процесса.

Выводы. Проведенное микробиологическое исследование показало, что состояние микробиоценоза полости рта у больных пародонтитом, протекающим на фоне сахарного диабета 2 типа, характеризуется глубокими дисбиотическими расстройствами. Данное состояние можно охарактеризовать как сукцессию – последовательную необратимую и закономерную смену одного биоценоза (в данном случае – микробного сообщества) другим в определенном биотопе.

Отмечено, что в группе пациентов с длительностью сахарного диабета более 10 лет в биотопе пародонтального кармана значительно чаще встречались микроорганизмы, стимулирующие факторы патогенности и персистенции симбионтов (*S. haemolyticus*, *S. aureus*, *Candida ssp.*), а штаммы, обладающие антагонистическим действием к патогенной и условно-патогенной микрофлоре (*S. salivarius*, *Corynebacterium spp.*), напротив – реже. Микрофлора пародонтальных карманов пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом является более стабильной, однако также значительно отличается от нормальной, снижается защитная и регуляторная функции аутохтонной микрофлоры, являющейся биологическим барьером, препятствующим размножению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, поступающих из внешней среды, а также адекватно стимулирующей местный иммунитет и поддерживающей цитокиновый баланс.

Список литературы

1. Аль Зоман Х. Сахарный диабет и заболевания пародонта – изучая взаимосвязь // Лечащий врач. – 2014. – № 3. – С.6-9.
2. Матисова Е.В., Крамарь В.С., Климова Т.Н. Колонизационная резистентности полости рта в норме и при патологии // Вестник ВолГМУ. – 2009. – № 4 (32). – С. 80-83.
3. Михальченко В.Ф., Патрушева М.С., Яковлев А.Т. Клинико-иммунологическая оценка эффективности применения медикаментозных лечебно-профилактических комплексов при лечении больных пародонтитом легкой степени тяжести // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 11: Естественные науки. – 2012. – № 1. – С. 32-36.
4. Старикова И.В., Чаплиева Е.М., Патрушева М.С., Триголос Н.Н., Радышевская Т.Н., Алешина Н.Ф. Сравнительная характеристика показателей местного иммунитета у больных хроническим генерализованным пародонтитом на фоне артериальной гипертензии и метаболического синдрома // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: www.science-education.ru/123-20186.

5. Триголос Н.Н., Македонова Ю.А., Фирсова И.В., Старикова И.В., Питерская Н.В., Марымова Е.Б., Поройская А.В. Содержание иммуноглобулинов в периферической венозной крови и десневой жидкости у больных хроническим генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1 (53). – С. 93-96.
6. Chavarry NGM, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A (2009). The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis // Oral Health Prev Dent. – 2009. – № 7. – P. 107–127.
7. Grossi S. G., Genco R. J. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship // Ann Periodontol. – 1998. – № 3. – P. 51–61.

Рецензенты:

Фирсова И.В., д.м.н., доцент, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград;

Данилина Т.Ф., д.м.н., профессор, профессор кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград.