

ХРОНІЧНИЙ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ЯК НАСЛІДОК ПОРУШЕННЯ БІОПЛІВКИ БІОТОПУ ПОРОЖНИНИ РОТА

*К.С. Непорада¹, А.О. Микитенко¹,
Д.С. Янковський², В.П. Ширококов³,
Г.С. Димент²*

¹Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

²Науково-виробнича компанія «О.Д. Пролісок», м. Київ

³Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Резюме. На підставі клінічного спостереження та біохімічного дослідження ротової рідини пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом доведена клінічна ефективність використання нового виду мультипробиотика групи «Симбітер®».

Ключові слова: пародонтит, біоплівка, мультипробиотик.

ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ КАК СЛЕДСТВИЕ НАРУШЕНИЕ БИОПЛЕНКИ БИОТОПА ПОЛОСТИ РТА

*К.С. Непорада, А.О. Микитенко, Д.С. Янковский,
В.П. Ширококов Г.С. Димент*

Резюме

На основе клинических наблюдений и биохимических исследований ротовой жидкости больных с хроническим генерализованным пародонтитом обоснована эффективность использования нового вида мультипробиотика группы «Симбитер®».

Ключевые слова: пародонтит, биопленка, мультипробиотик.

CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS AS A RESULT OF DISORDERS OF BIOTOPE BIOFILM OF ORAL CAVITY

*K. Naporada, A. Mykytenko, D. Yankovskiy,
V. Shyrobokov, G. Dyment*

Summary

It was proved a clinical efficiency of use of multiprobiotic based on clinical observations and biochemical investigations of oral cavity in patients with chronic generalized periodontitis.

Key words: periodontitis, biofilm, multiprobiotic.

Мікробіом людини – це сукупність близько десяти тисяч видів мікробів з усіма їх особливостями та взаємними зв'язками, які населяють слизові оболонки та шкіру. Загальний мікробіом складається з мікробних ценозів різних біотопів: назофарингіального, урогенітального, шкіри, гастроінтестинального та ротової порожнини. Остання займає важливе місце у функціонуванні єдиної фізіологічної мікробної системи людини, зокрема за чисельністю індигенної мікробіоти, – друге після гастроінтестинального біотопу. Фізіологічна мікробна система існує у двох варіантах: при-стінкова, яка є ключовим компонентом так званої «біоплівки», та порожнинна, яка вільно розміщується в рідкому середовищі [1, 2, 3].

Біоплівка це структурований консорціум мікроорганізмів, інкапсульованих у самопродуковану біополімерну матрицю, головним компонентом якої є екзополісахариди. Роль біоплівки як етіологічного фактора у виникненні карієсу та захворювань тканин пародонту відома давно [4, 5]. Мікрофлора порожнини рота людини являє собою високочутливу індикаторну систему, що реагує якісними й кількісними зрушеннями на зміни стану різних органів і систем та організму в цілому [6, 7].

У ході еволюції під час взаємодії макроорганізму людини й мікроорганізмів навколишнього середовища відбулася селекція мікрофлори, здатної до адгезії та колонізації поверхневого епітелію слизової оболонки рота. У такий спосіб сформувалися симбіотичні мікробні асоціації, що складають нормальну захисну біоплівку. Порожнина рота – відкритий біотоп, в якому постійно формується унікальна мікро-екологічна система, що задає алгоритм формування захисної біоплівки в інших системах [7, 8]. Через посередництво біоплівки регулюється імунна відповідь організму на місцевому та системному рівнях. Біоплівка виконує роль активного сорбенту, що виводить з організму токсини. Біоплівка підтримує енергетичний та трофічний обмін речовин, є специфічним регулятором, що підтримує гармонійні взаємини організму із власною індигенною мікрофлорою відкритого біотопу порожнини рота, а також з мікроорганізмами, що випадково транслюкувались у біотоп [8].

Зубний наліт найбільш часто утворюється й відкладається на оральних поверхнях нижніх центральних різців у ділянках їх шийок і сповзає в *sulkus gingivae*, викликаючи його подразнення та запалення, збільшуючи стікання зубного ліквору. У патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту зубний наліт пенетрує

дно *sulkus gingivae*, проникаючи під епітелій у струму сполучної тканини, викликаючи її запалення. У свою чергу, запалення збільшує стікання ліквору й у такий спосіб значно покращує умови для розмноження мікробіоти в ділянці новоствореної своєрідної патологічної екологічної ніші – пародонтальної кишені. Крім того, запалення стимулює вегетацію епітелію в напрямку верхівки кореневої частини зуба, що обмежений компактними пластинками пародонтальної щілини. Саме вегетація епітелію викликає дефект епітеліального покриву дна *sulkus gingivae* й відсікає зв'язки періодонту. Зв'язки періодонту заміщаються грануляційною тканиною, значно збільшуючи площу поверхні зовнішнього покриву, що інфільтрований мікробіотой зубного нальоту. Таким чином, основною патогенетичною ланкою, гранню перетворення захисної біоплівки, зубного нальоту, що утворений індигенною мікробіотой порожнини рота, є подолання представниками мікробіоти епітеліального покриву та поширення запального інфільтрату у сполучній тканині пародонту за зубо-яснаєв'єднання *sulkus gingivae*.

Мікробіом ротової порожнини починає формуватися з перших днів народження дитини. Його склад і функціональна активність мають індивідуальний, спадково визначений характер, а також залежать від віку людини, особливостей харчування, клімату, екологічних і побутових умов і багатьох інших чинників. Ротовий біоценоз має дуже важливу змінну, мутабельну властивість. Тому є над чим працювати у клінічних дослідженнях. Якщо ми навчимося оптимізувати мікробіом, то навчимося підтримувати його у здоровому стані. Важливу роль у цьому можуть відігравати мультипробіотичні препарати, що є не просто набором штамів індигенної мікрофлори, а являють собою стабільні мутуалістичні консорціуми найбільш фізіологічних представників здорових біоценозів, що населяють біотопи організму людини.

Метою даного дослідження було обґрунтування введення мультипробіотикотерапії захворювань тканин пародонту для сукцесії пародонтопатогенів і нормалізації біоплівки порожнини рота.

Сучасний фармакологічний ринок України характеризується наявністю широкого асортименту пробіотичних препаратів, але більшість із них є сухою формою ліофілізованих клітин. Для їх реактивації потрібні час і фізико-хімічні умови дистального відділу кишечника, що неможливо, якщо метою використання є біотоп порожнини рота. Тому, на наш погляд, препаратами вибору є живі мультипробіотики, основу яких складають мутуалістичні консорціуми широкого спектра штамів фізіологічних бактерій. Використання інших форм пробіотичних препаратів у порожнині рота є недоцільним.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом клінічного дослідження були 36 пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом I–II ступеня тяжкості у період ремісії. Середній вік хворих – 38±3,2 року. Усім пацієнтам проводили професійну гігієну порожнини рота.

Мультипробіотик «Симбітер® омега» розроблений науково-виробничою компанією «О.Д. Пролісок» і є новим видом мультипробіотиків групи «Симбітер®». У його склад входять 18 штамів пробіотичних бактерій, що належать до родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* та *Acetobacter*, і знаходяться у формі стійкого мутуалістичного симбіозу. Додатково у склад препарату входять високоочищений гель бентоніту та олії льону й паростків пшениці, які є цінним джерелом омега-3 та омега-6 поліенових незамінних жирних кислот. Пробіотична активність препарату обумовлена високою антагоністичною активністю відносно широкого спектра патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, синтезом вітамінів, коротколанцюгових жирних кислот, екзополісахаридів, глікопептидів тощо. Мультипробіотик «Симбітер® омега» містить в одній дозі (10 см³) не менше 2×10¹⁰ живих клітин пробіотичних бактерій і показаний дітям віком старше 3-х років і дорослим. У склад однієї дози «Симбітер® омега» (10 см³) входить концентрована біомаса живих клітин симбіозу мікроорганізмів, КУО/см³, не менше: лактобацили та лактооки – 1,0×10¹⁰, пропіоновокислі бактерії – 1,0×10⁹, біфідобактерії – 1,0×10¹⁰, оцтовокислі бактерії – 1,0×10⁶.

Для ефективного використання мультипробіотика, який має антагоністичну дію на більшість умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, використовували індивідуальні денто-альвеолярні капи для безпосереднього контакту симбіотичної мікрофлори препарату з пародонтопатогенами. Денто-альвеолярні капи, в які вносили мультипробіотик «Симбітер® омега» на ніч упродовж 20-ти днів, виробляли за допомогою стоматологічного вакуумного формувача «Ultraform» з поліетилену.

Оцінку стану тканин пародонту проводили за рахунок клінічних і рентгенологічних методів обстеження. У пацієнтів оцінювали гігієнічний стан порожнини рота за допомогою гігієнічного індексу (Ю.А. Федоров, В.В. Володкіна, 1971). Патологічні зміни у тканинах пародонту реєстрували з використанням папілярно-маргінально-альвеолярного індексу ПМА (С. Парма, 1960), пародонтального індексу ПІ (А.Л. Руссел, 1956).

Для обґрунтування клінічної ефективності використання мультипробіотика «Симбітер® омега» для лікування пацієнтів з генералізованим пародонтитом вибрали дослідження біохімічних показників саме ротової

Таблиця 1

Індексна оцінка пародонта у хворих на хронічний генералізований пародонтит I–II ступенів у період ремісії до та після профілактичного лікування мультипробіотиком „Симбітер® омега”, (M±m)

Показник	До лікування (n = 36)	Після лікування (n = 36)	Статистичний показник
Гігієнічний індекс Федорова-Володкіної, у.о.	2,03±0,04	1,39±0,04	P<0,05
Гінгівальний індекс РМА, %	76,5±1,52	43,83±0,82	P<0,05
Пародонтальний індекс ПІ, у.о.	3,92±0,04	3,41±0,04	P<0,05

**Біохімічні показники ротової рідини хворих
на хронічний генералізований пародонтит I–II ступенів
до та після лікування мультипробіотиком
„Симбітер® омега”, (M±m)**

№ п/п	Показник	До лікування (n = 36)	Після лікування (n = 36)	Статистичний показник
1	Активність орнітиндекарбоксілази, нмоль/мл×хв	23,64±1,15	30,9±1,11	P < 0,05
2	Активність каталази, мккат/л	0,13±0,0067	0,29±0,0099	P < 0,05
3	Загальна протеолітична активність, мкмоль/мл×хв	18,03±0,13	13,7±0,49	P < 0,05
4	Загальна антитриптична активність, г/л	2,44±0,16	4,42±0,08	P < 0,05
5	Вміст окисно модифікованих білків, у.о.	0,12±0,0047	0,06±0,0021	P < 0,05
6	Вміст ТБК-реактивних, мкмоль/л	64,64±7,79	40,47±1,47	P < 0,05
7	Активність супероксиддисмутази, од/г	0,12±0,0039	0,18±0,0019	P < 0,05
8	Вміст молекул середньої маси, у.о.	0,20±0,0064	0,11±0,0054	P<0,05

рідини, по-перше, за більш об'єктивну картину, яка відображає стоматологічний статус, по-друге – дослідження слини є неінвазивним методом. Для біохімічного дослідження в пацієнтів збирали нестимульовану ротову рідину натщесерце, в якій визначали вміст окисно-модифікованих протеїнів [9], ТБК-реактивних [10], активність каталази [11] та супероксиддисмутази [11]. Ступінь ендогенної інтоксикації визначали за вмістом молекул середньої маси [12], визначали протеїназно-інгібіторний потенціал за активністю протеїнази [13] і загальної антитриптичної активності [14], активність орнітиндекарбоксілази [15].

Одержані результати проаналізовані з використанням методів статистики. Статистична обробка отриманих результатів дослідження проводилась на ПК Intel Pentium 4 із застосуванням програми Microsoft Excel для Windows Professional і містила в собі визначення середніх значень параметрів (M) і середньої похибки (±m). Вірогідність відмінностей між середніми величинами вибірок проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Різниця середніх і відносних частот вважалася значущими при рівні довірчої імовірності (P) менше 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Установлено значне покращення клінічних індексів для оцінки пародонта у хворих з хронічним генералізованим пародонтитом після профілактичного лікування мультипробіотиком «Симбітер® омега», про що свідчать дані табл. 1.

Гігієнічний індекс Федорова-Володкіної, гінгівальний індекс РМА та пародонтальний індекс вірогідно змі-

нювались у всіх хворих після лікування в порівнянні із цими показниками до використання мультипробіотика «Симбітер® омега» (табл. 1).

Об'єктивна оцінка системи протеолізу можлива лише за умов урахування загальної протеолітичної активності ротової рідини та активності інгібіторів протеїнази, які гальмують протеолітичні ферменти, їх співвідношення визначається як протеїназно-інгібіторний потенціал.

Установлено, що в усіх пацієнтів до лікування хронічного генералізованого пародонтиту в ротовій рідині вірогідно зростала загальна протеолітична активність на тлі зменшення загальної антитриптичної активності. Отже, за умов розвитку хронічного генералізованого пародонтиту відбувається дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу ротової рідини. Використання мультипробіотика сприяло вірогідному зменшенню загальної протеолітичної активності ротової рідини на тлі достовірного зростання анти-протеолітичної активності у хворих після лікування в порівнянні із цими показниками до лікування (табл. 2).

Орнітиндекарбоксілаза є ключовим ферментом синтезу регуляторних поліамінів таких як путресцин, спермін, спермідин та інших, які регулюють процеси реплікації та транскрипції і, як наслідок, проліферації клітин. Наявні також дані про роль поліамінів, пов'язаних з орнітиндекарбоксілазою в механізмі дії ФРЕ. У досліджах *in vitro* поліаміни стимулюють активність ДНК-залежної РНК-полімерази. Суттєва роль поліамінів полягає в ініціації синтезу пептидів шляхом зміни конформації рибосом. Таким чином, поліаміни відіграють важливу регуляторну роль у процесах, пов'язаних з біосинтезом білків і нуклеїнових кислот.

Установлено, що у ротовій рідині в усіх пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом до лікування активність орнітиндекарбоксілази вірогідно зменшувалась у порівнянні з контролем. У пацієнтів, які отримували курс лікування мультипробіотиком «Симбітер® омега» під денто-альвеолярні індивідуальні капи на ніч, активність орнітиндекарбоксілази у ротовій рідині після лікування вірогідно зросла у порівнянні з активністю даного ферменту до лікування (табл. 2).

Отже, на підставі дослідження протеїназно-інгібіторного потенціалу та активності орнітиндекарбоксілази ротової рідини в пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом доведена клінічна ефективність застосування мультипробіотика «Симбітер® омега», про що свідчить вірогідне зниження активності протеїназ на тлі зростання активності інгібіторів протеїназ та орнітиндекарбоксілази.

Загальновідомо, що активація процесів вільнорадикального окислення є універсальним механізмом клітинного ушкодження при стресорних впливах [16, 17], при ішемії та в постішемичний період [18]. Продукти перекисного окислення ліпідів відносяться до найбільш сильних модифікаторів біологічних мембран при ряді патологічних процесів. Вони здатні підвищувати проникність ліпідного бішару для іонів K^+ , H^+ і Ca^{2+} , змінювати його фізико-хімічні властивості, що зумовлює зниження текучості мембран, величини заряду і призводить до порушення ліпід-білкової взаємодії, інактивації інтегральних білків [18].

Результати досліджень інтегральних показників вільно-радикального окислення вмісту окисно-модифікованих білків та ТБК-реактантів у ротовій рідині за умов розвитку хронічного генералізованого пародонтиту та лікування мультипробіотиком «Симбітер® омега» представлені в таблиці 2.

Установлена в усіх хворих із хронічним генералізованим пародонтитом інтенсифікація вільно-радикального окислення в ротовій рідині, про що свідчить вірогідне підвищення вмісту окисно-модифікованих протеїнів і

ТБК-реактантів. Використання мультипробіотика «Симбітер® омега» сприяє вірогідному зменшенню в ротовій рідині вмісту окисно-модифікованих білків і ТБК-реактантів у порівнянні з цими показниками до лікування (табл. 2).

Каталаза – один з головних ферментів антирадикального захисту, який здатен інактивувати перекис водню, вона є синергістом супероксиддисмутази, тому визначення їх активностей має суттєве значення для оцінки антиоксидантної системи організму. Установлено, що в пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом у ротовій рідині вірогідно зменшується активність каталази та супероксиддисмутази. Після використання мультипробіотика «Симбітер® омега» в усіх пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом у ротовій рідині спостерігається достовірне зростання активності каталази та супероксиддисмутази у порівнянні із цими показниками до лікування (табл. 2).

Таким чином, використання мультипробіотика «Симбітер® омега» в усіх пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом призводить до інгібування оксидативного стресу на тлі зростання антирадикального захисту ротової рідини.

Молекули середньої маси відображають ступінь ендогенної інтоксикації [12]. Установлено, що в пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом у ротовій рідині вірогідно підвищується вміст молекул середньої маси. У пацієнтів, в яких застосовували мультипробіотик «Симбітер® омега», у ротовій рідині вміст молекул середньої маси вірогідно зменшився в порівнянні із цим показником до лікування (табл. 2).

Таким чином, використання «Симбітер® омега» під денто-альвеолярні індивідуальні капи на ніч є ефективним способом лікування пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом, про що свідчать нормалізація протеїназно-інгібіторного потенціалу, зростання активності орнітиндекарбоксілази та інгібування вільно-радикального окислення на тлі підвищення антирадикального захисту ротової рідини.

ЛИТЕРАТУРА

1. J.B. Kaplan. Biofilm Dispersal: Mechanisms, Clinical Implications, and Potential Therapeutic Uses // J. Dent. Res. – 2010. – 89 (3). – P. 205–218.
2. Shoji Takenaka. Direct Visualization of Spatial and Temporal Patterns of Antimicrobial Action within Model Oral Biofilms / Shoji Takenaka, Harsh M. Trivedi, Audrey Corbin, Betsey Pitts, Philip S. Stewart // Applied and environmental microbiology. – 2008, Mar. – P. 1869–1875.
3. J. Hua. Activity of antimicrobial peptide mimetics in the oral cavity: II. Activity against periopathogenic biofilms and anti-inflammatory activity / J. Hua, R.W. Scott, G. Diamond // Mol. Oral Microbiol. – 2010. – 25 (6). – P. 426–432.
4. Jose A. Lemos. Protocols to Study the Physiology of Oral Biofilms / Jose A. Lemos, Jacqueline Abranches, Hyun Koo, Robert E. Marquis, Robert A. Burne // Methods Mol. Biol. – 2010. – 666. – P. 87–102.
5. Anna Dongari-Bagtzoglou. Pathogenesis of mucosal biofilm infections: challenges and progress // Expert Rev. Antilfect. Ther. – 2008. – 6 (2). – P. 201–208.
6. Martinus J. Verkaik Oral biofilm models for mechanical plaque removal / Martinus J. Verkaik, Henk J. Busscher, Minie Rustema-Abbing, Anje M. Slomp, Frank Abbas, Henry C. van der Mei // Clin. Oral Invest. – 2010. – 14. – P. 403–409.
7. Ya-Ling Liuo Progress toward understanding the contribution of alkali generation in dental biofilms to inhibition of dental caries / Ya-Ling Liu, Marcelle Nascimento, Robert A. Burne // International Journal of Oral Science. – 2012. – 4. – P. 135–140.
8. Yoshida Y. Streptococcal receptor polysaccharides: recognition molecules for oral biofilm formation / Yoshida Y, Palmer R.J., Yang J., Kolenbrander P.E., Cisar J.O. // BMC Oral Health. – 2006. – 6 (Suppl. 1): S. 12.

9. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 5–12.
10. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
11. Архипова О.Г. Методы исследования в профпатологии. – М.: Медицина, 1988. – 208 с.
12. Габризян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лаб. дело. – 1984. – №3. – С. 138–140.
13. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич У.Г. Исследования пищеварительного аппарата у человека. – Л.: Наука, 1969. – 216 с.
14. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.Н. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
15. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксілазы в смешанной слюне человека / В.А. Храмов // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – № 4. – С. 14–15.
16. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. – М.: Медицина, 1984. – 272 с.
17. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
18. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути повреждения и лечения). – М.: Медицина, 1989. – 368 с.