

В.В. Долгих, Д.В. Кулеш, Л.Р. Колесникова, Н.Н. Чемезова

ВЫЯВЛЕНИЕ ПАРОДОНТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ ЭССЕНЦИАЛЬНАЯ АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ МЕТОДОМ ПЦР

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)

Пародонт наравне с мозгом, сердцем, почками является органом-мишенью для артериальной гипертензии. При этом развиваются нарушения в системе микроциркуляторного русла, влияющие на трофику тканей зубочелюстной системы, что способствует более активному протеканию патологических процессов в пародонте. В этой связи представляется актуальным выявление пародонтопатогенных микроорганизмов у больных с эссенциальной артериальной гипертензией. Нами проведена детекция пяти пародонтопатогенов, наиболее часто вызывающих развитие заболеваний, у подростков с эссенциальной гипертензией с помощью отечественной тест-системы «Мультиидент-5» (ООО НПФ «Генлаб», Москва).

Ключевые слова: артериальная гипертензия, пародонтопатогенные микроорганизмы, заболевания тканей пародонта

IDENTIFICATION OF PERIODONTITIS PATHOGENIC MICROORGANISMS IN PATIENTS WITH THE DIAGNOSIS OF ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSIA BY MEANS OF PCR METHOD

V.V. Dolgikh, D.V. Kulesh, L.R. Kolesnikova, N.N. Chemezova

Scientific center of family health and human reproduction problems SB RAMS, Irkutsk

Periodontitis the same as brain, heart, kidneys is an organ-target for an arterial hypertension. Disturbances in system of the microcirculatory bed, influencing a trophism of tissues of dentoalveolar system that promotes more active course of pathological processes in periodontitis thus develop. Actual revealing periodontitis pathogenic microorganisms in patients with an essential arterial hypertension thereupon is represented. By us it is spent indication of five periodontitis pathogenic microorganisms, which most often causing development of diseases, in teenagers with an essential hypertension by means of test system «Multident-5» («Genlab», Moscow).

Key words: an arterial hypertension, periodontitis pathogenic microorganisms, diseases of tissues of periodontitis

АКТУАЛЬНОСТЬ

Артериальная гипертензия, распространенная у взрослых, долгое время считалась редкой патологией детского возраста. Однако исследования, проведенные как зарубежными, так и российскими специалистами выявили, что повышенное артериальное давление нередко регистрируется и в детском возрасте [2, 4].

Пародонт как и мозг, сердце, почки является органом-мишенью для артериальной гипертензии. Патологические изменения в нем и слизистой оболочке отмечаются при многих заболеваниях, сопровождающихся изменениями со стороны иммунной, сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной системы. У больных хроническим генерализованным пародонтитом и артериальной гипертензией отмечено значительное снижение показателей минерального обмена ротовой жидкости [3].

В полости рта содержится более 1000 видов микробных сообществ, связанных с эпителием слизистой оболочки или находящихся на поверхности зуба. Анаэробные бактерии способствуют развитию синусита и других воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. Грамотрицательные анаэробные бактерии вызывают деструкцию пародонта – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros* [1, 7].

У здоровых детей *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* встречается в 4%, а при заболеваниях тканей пародонта они встречаются более часто (до 58%) [6]. При обследовании 263 жителей Финляндии в возрасте от 5 до 80 лет, ДНК *P. gingivalis* выявлена в слюне у 5% детей в возрасте 5–10 лет, у 14% в группе от 11 до 20 лет и в 63% случаев у лиц старше 30 лет, когда возрастает частота и интенсивность заболеваний тканей пародонта [5].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

При помощи отечественной тест-системы «Мультиидент-5» (ООО НПФ «Генлаб», Москва) провести выявление пародонтопатогенных микроорганизмов у подростков с эссенциальной гипертензией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор реагентов «Мультиидент-5» предназначен для определения ДНК пародонтопатогенных микробов *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* при помощи мультиплексной полимеразной цепной реакции. Предложенный набор включает комплект реагентов для пробоподготовки; комплект для амплификации, содержащий буфер, 5 прямых и 2 обратных праймера, дезоксинуклеозидтрифосфаты, ДНК-полимеразу, положитель-

ный и отрицательный контрольные образцы, и комплект для анализа продуктов ПЦР. Принцип действия набора основан на выделении ДНК пародонтопатогенов с помощью комплекта I, амплификации фрагментов хромосомной ДНК (комплект II) и детекции продуктов ПЦР методом электрофореза в агарозном геле (комплект III). Положительный контрольный образец ДНК состоит из ДНК рекомбинантной плазмиды с клонированным фрагментом размером 1000 п. н. генома *P. intermedia*, ДНК рекомбинантной плазмиды с клонированным фрагментом размером 745 п. н. генома *B. forsythus*, ДНК рекомбинантной плазмиды с клонированным фрагментом размером 512 п. н. генома *T. denticola*, ДНК рекомбинантной плазмиды с клонированным фрагментом размером 360 п. н. генома *A. actinomycetemcomitans*, ДНК рекомбинантной плазмиды с клонированным фрагментом размером 197 п. н. генома *Porphyromonas gingivalis*.

Чувствительность набора составляет не более 10^4 копий/мл для каждого возбудителя, что обеспечивает возможность выявления бактерий в количествах, характерных для участков с риском развития или прогрессирования пародонтита и снижение расхода реагентов для амплификации. Специфичность набора была доказана экспериментально и проверена на клинических образцах. Предложенный набор реактивов позволяет одновременно, быстро, просто и точно идентифицировать в одной пробе 5 видов пародонтопатогенов, в том числе трудно культивируемые, с помощью одноступенчатой мультиплексной ПЦР.

Проведено обследование 36 пациентов с диагнозом «эссенциальная артериальная гипертензия», находившихся на лечении в клинике ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН в возрасте от 13 до 17 лет. Материал для исследования — отделяемое пародонтального кармана и слюна. Перед взятием материала из пародонтального кармана всем пациентам проведено удаление наддесневых зубных отложений. Место отбора просушивали с помощью стерильного ватного шарика. Вводили одноразовый стерильный зонд в десневой желобок так, чтобы исключить контакт со слизистой, поверхностью эмали или коронкой зуба. Оставляли зонд в этом положении на 10 секунд. Затем переносили зонд в пробирку типа Ерпендорф, содержащую 500 мкл физиологического раствора и перемешивали.

Забор слюны проводили после полоскания полости рта дезинфицирующим раствором. В пробирку типа Ерпендорф собирали не менее 500 мкл слюны. Материал передавали в лабораторию для исследования.

Стоматологическое обследование включало:

1. Осмотр слизистой оболочки полости рта.
2. Осмотр зубного ряда, запись зубной формулы и определение индекса интенсивности кариеса.
3. Определение индекса гигиены полости рта по Федорову — Володкиной в модификации Пахомова.

4. Определение индекса гингивита (РМА) и пародонтального индекса (КПИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Со стороны слизистой оболочки полости рта каких-либо изменений не отмечалось: слизистая оболочка полости рта бледно-розового цвета, влажная, без патологических изменений. При определении индекса интенсивности кариеса у 9 % подростков отмечается интактный зубной ряд. У 90 % обследуемых отмечается поражение кариозным процессом первых нижних моляров (из них у 18 % отмечают удаление постоянных моляров по поводу осложненного кариеса в анамнезе). В 46 % случаях отмечается поражение кариозным процессом вторых моляров верхней и нижней челюсти. У 25 % пациентов отмечается кариес первых и вторых постоянных моляров верхней и нижней челюсти (индекс интенсивности кариеса превышает 9).

Индекс гигиены полости рта соответствовал значениям «хорошо» и «удовлетворительно» во всей группе обследованных.

Изменения со стороны тканей пародонта отмечены в виде наддесневых зубных отложений у 15 % пациентов, из них 9 % имели интактный зубной ряд. Индекс гингивита (РМА) в пределах легкой степени воспаления зарегистрирован у 12 % обследованных.

С помощью системы «Мультидент-5» из отделяемого пародонтального кармана у 12 % обследованных с явлениями гингивита и наддесневыми зубными отложениями обнаружены *A. actinomycetemcomitans* и *P. gingivalis*, которые являются факторами риска хронического генерализованного пародонтита.

В исследуемом материале — слюне, у пациентов со здоровым пародонтом в 12 % случаях были выявлены ДНК *P. gingivalis*, у 6 % пациентов ДНК *A. actinomycetemcomitans* и *P. gingivalis*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У подростков с диагнозом эссенциальная артериальная гипертензия в отделяемом пародонтальных карманов в 12 % случаев обнаружены *A. actinomycetemcomitans* и *P. gingivalis*, которые являются факторами риска хронического генерализованного пародонтита. Отметим, что у этих пациентов наблюдались также явления гингивита и наддесневые зубные отложения. Пародонтопатогены у пациентов с артериальной гипертензией выявлялись в 3 раза чаще, чем у здоровых.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Воспалительные заболевания пародонта как фактор риска развития патологии сердечно-сосудистой системы // Стоматология. — 2007. — № 5. — С. 76 — 78.
2. Долгих В.В., Колесникова Л.И. Патогенез эссенциальной артериальной гипертензии у детей. — Иркутск : ВСНЦ СО РАМН, 1999. — 220 с.

3. Казарина Л.Н., Дубровская Е.Н. Оценка показателей минерального обмена ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите у больных артериальной гипертензией // Нижегород. мед. журн. — 2008. — № 2, Вып. 2. — С. 69–69.

4. Леонтьева И.В. Проблема артериальной гипертензии у детей и подростков // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. — 2006. — № 5. — С. 7–18.

5. Метод ПЦР-детекции пародонтопатогенных бактерий и стрептококка мутанс в биологических

образцах из ротовой полости / А.Б. Чухловин [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2007. — № 4. — С. 35–38.

6. Николаева Е.Н. Молекулярно-генетические маркеры генерализованного пародонтита и их применение в диагностике : автореф. дис. ... док. мед. наук : 03.00.07; 14.00.36 / Моск. Гос. медико-стом. университет «Росздрава». — М., 2007. — 48 с.

7. Тец В.В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека // Стоматология. — 2008. — № 3. — С. 76–80.

Сведения об авторах

Долгих Владимир Валентинович – д.м.н., профессор, зам. директора ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН по науке

Кулеш Дмитрий Владимирович – к.м.н., директор ИЭМ ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН

Колесникова Лариса Романовна – к.м.н., врач-стоматолог клиники ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН

Чемезова Наталья Николаевна – к.м.н., научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций ИЭМ ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН