

Усманова И.Н., Аль-Кофиш М.А.М., Лебедева А.И., Хуснарязанова Р.Ф., Усманов И.Р.

Влияние микрофлоры полости рта на состояние микроциркуляции тканей пародонта

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Уфа

Usmanova I.N., Al-Cafes M.A.M., Lebedeva A.I., Kusnarizanova R.F., Usmanov I.R.

The influence of the microflora of the mouth on the microcirculation of the periodontal tissues

Резюме

Проведенное микробиологическое исследование различных биотопов полости рта свидетельствует о том, что представители пародонтопатогенной микрофлоры встречаются в незначительных концентрациях при клинически интактном пародонте, а при развитии выраженного хронического воспалительного процесса в тканях пародонта приводит увеличение их количества и изменение качественного состава. В результате этого в биотопах полости рта активно образуются эндотоксины, которые проникают через эпителий десны, вызывают ряд патологических изменений в ее соединительной ткани, что способствует выраженному расстройству микроциркуляции. При морфологическом исследовании биоптатов десны с ранними стадиями воспаления в сосочковом слое выявлялись новообразованные капилляры, а в сетчатом - облитерация, спазм, разрыв сосудов, с хроническим пародонтитом легкой степени тяжести в одних случаях наблюдались очаги кровоизлияний, полнокровие и стаз эритроцитов, в других – стеноз и облитерация просвета сосудов, васкулиты, микротромбозы и разрывы стенок сосудов.

Ключевые слова: хронический гингивит, пародонтит, пародонтопатогены, микроциркуляция, морфологическое исследование тканей пародонта

Summary

Conducted microbiological study of the different biotopes of oral cavity suggests that the representatives of parodontopathogenic microflora are found in small concentrations in clinically intact periodontium, and the development of pronounced chronic inflammatory process in the periodontal tissues leads to increase their number and change of qualitative structure. As a result, habitats of the oral cavity actively produces endotoxins that penetrate through the epithelium of the gums, causing a number of pathological changes in connective tissue that contributes to the pronounced disorders of microcirculation. A morphological study of biopsy specimens of the gum with early stages of inflammation in the papillary layer were detected in newly formed capillaries and in mesh - obliteration, spasm, rupture of blood vessels with chronic periodontitis mild severity in some cases, there were foci of hemorrhage, hyperemia and stasis of red blood cells, in others stenosis and obliteration of the lumen of blood vessels, vasculitis, microthrombosis and ruptures of blood vessels.

Key words: chronic gingivitis, periodontitis, parodontopathogenic microorganisms: morphological study of periodontal tissues

Введение

Воспалительные заболевания пародонта занимают одну из лидирующих позиций в структуре стоматологической патологии (ВОЗ, 2009), однако в ряде исследований отмечается не только отсутствие снижения, но и тенденция к увеличению распространенности поражений тканей пародонта вне зависимости от возраста обследуемых и региона проживания [1,3,4]. Развитие начальных форм воспалительного процесса в тканях пародонта, обусловлено различными факторами риска [1,5,6,7,8], в частности, первичное поражение тканей пародонта с последующим развитием хронического воспаления, могут вызвать представители нормальной микрофлоры - ус-

ловно-патогенные микроорганизмы (Gr+): лактобактерии, нейссерии, стрептококки, энтерококки, ноккардии, а также дрожжеподобные грибы рода Candida, которые в процессе своей жизнедеятельности способствуют изменению окислительно-восстановительного потенциала зубной бляшки, и тем самым создают оптимальные условия для развития строгих анаэробов (Gr-): вейлонелл, лептотрихий, актиномицет, а позднее фузобактерий. В результате жизнедеятельности микроорганизмов в зубной бляшке образуются метаболиты, которые проникают через эпителий десны, вызывая ряд патологических изменений в ее соединительной ткани, в результате чего является расстройство микроциркуляции. Центральным

звеном в развитии микроциркуляторных нарушений является расстройство капиллярного кровотока, обычно начинающееся со снижения его интенсивности, а заканчивающееся развитием капиллярного стаза в нутритивном звене микроциркуляторного русла. Нарушения в системе микроциркуляции при хроническом воспалении вначале носят очаговый характер, и по мере утяжеления степени тяжести воспалительного процесса в тканях пародонта признаки нарушения микроциркуляции нарастают, а изменения в микрососудах приобретают генерализованный характер [2,3,5].

Цель исследования: изучение взаимосвязи нарушений микробиологических и микроциркуляторных звеньев в патогенетическом механизме развития хронического воспаления в тканях пародонта у лиц молодого возраста.

Материалы и методы

Проведено комплексное стоматологическое обследование 105 лиц молодого возраста в возрасте от 20 до 35 лет. Контрольная группа состояла из 35 человек (15 мужчин и 18 женщин), в I клиническую группу вошли 35 человек с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ) - (15 мужчин и 20 женщин), во II - 35 человек с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (ХГПЛСТ) (18 мужчин и 15 женщин). Все клинические группы сопоставимы как по полу, так и по возрасту, без выраженной соматической патологии.

В диагностике воспалительных заболеваний пародонта, оценке их тяжести и распространенности использовали STEPS-подход (рекомендации ВОЗ 2013), включающий клинические исследования факторов риска и самооценку состояния полости рта и поддержку её здоровья, оценку вредных привычек, качество жизни, социальную позицию с помощью анкетирования. Фиксировали данные опроса, осмотра, результаты дополнительных методов исследования и индексную оценку состояния тканей пародонта – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА), упрощенный гигиенический индекс ОН-5, пародонтальный индекс РI, индекс кровоточивости SBI.

Для определения пародонтопатогенной микрофлоры полости рта проводилась ПЦР-диагностика с использованием коммерческих наборов ДНК-экспресс (ООО Научно Производственной Фирмы (НПФ) «Литех», Россия) с использованием теста качественного анализа, согласно инструкции. Амплификацию видоспецифических фрагментов ДНК микроорганизмов - *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia* осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием готовых специфических праймеров в многоканальном амплификаторе Терзик МС-2 (НПФ «ДНК-Технология», Россия).

Морфологическая часть исследований выполнена на базе отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, (зав. отделом

д.м.н., профессор Муслимов С. А.). Для гистологического исследования использовали 63 биопатов мягких тканей десны, полученных при удалении зубов по ортодонтическим показаниям, на основании информированного согласия пациента. Из них 18 было взято у пациентов с клинически интактным пародонтом, 20 – у пациентов с хроническим генерализованным гингивитом, 25 - у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Биопсийный материал фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и после обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием светового микроскопа AxioImager Z1, оснащенного фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений Axiovision (C. Zeiss, Германия).

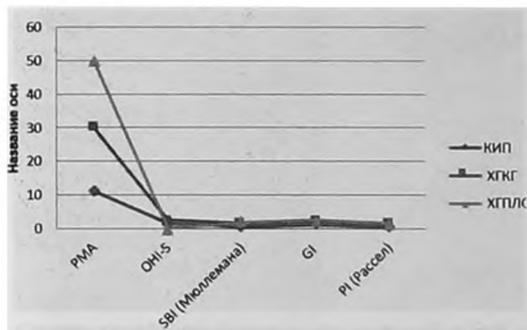
Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере типа IBM PC/AT с использованием пакета прикладных программ Statistica 7,0 и электронных таблиц Excel 2007. На основании величины t-критерия Стьюдента и степени свободы n, по таблице распределения t находили вероятность различия p. Достоверными считали данные, для которых вероятность ошибки (p) была меньше 0,05 ($p < 0,05$). Для непараметрических данных использовали программный пакет Biostat, включая критерий X2. Уровень достоверной значимости составлял $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

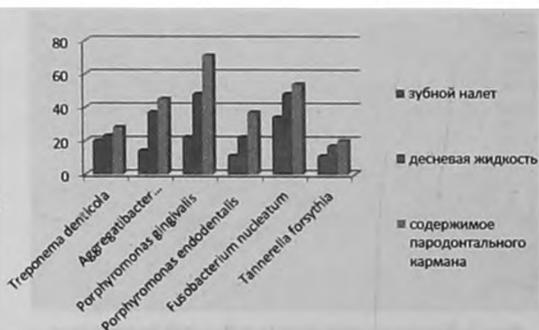
При анализе жалоб все обследованные отмечали зуд в дёснах, кровоточивость при механическом раздражении (при чистке зубов, приёме жёсткой пищи). Клиническая картина характеризовалась слабовыраженным воспалением: отмечался отек, гиперемия слизистой оболочки десны, наличие над- и поддесневых зубных отложений, глубина пародонтальных карманов у пациентов с ХГПЛС в среднем составляла $3,3 \pm 0,6$ мм, с выявлением их преимущественно в области межзубных промежутков. Вне зависимости от наличия воспалительного процесса уровень гигиены полости рта у данной категории лиц был выше показателей нормы, вследствие чего достоверно увеличиваются показатели индексов РМА, GI и SBI ($p \leq 0,05$) (диаг.1.)

В результате проведенного микробиологического анализа проб зубного налета, десневой и ротовой жидкости и содержимого пародонтального кармана с использованием качественного варианта тест-системы ПЦР в большинстве случаев выявлены положительные образцы специфических фрагментов ДНК пародонтопатогенов: при клинически интактном пародонте в 19% случаев, при хроническом гингивите и пародонтите соответственно 32,85% и 42,85 % в случаев.

Как правило обнаруживались микроорганизмы - *Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas endodontalis* и *T. denticola* с частотой выявления в среднем от 54,3 до



Диаг. 1. Показатели гигиенических и пародонтологических индексов в зависимости от клинического состояния тканей пародонта



Диаг. 2. Качественное соотношение выявленных представителей пародонтопатогенной микрофлоры в зависимости от их степени патогенности

34,3% с достоверным их увеличением у подавляющего большинства лиц 3 группы в составе поддесневой микрофлоры, в пробах десневой жидкости (2-я группа) эти виды встречались в среднем в 1,1 раза реже, а у лиц с КИП от 1,4 до 3,1 раза реже ($p < 0,05$).

В большинстве случаев у пациентов 1-й клинической группы в исследуемом биотопе полости рта выявлялись *Fusobacterium nucleatum* у 34,28%, *Porphyromonas gingivalis* в 22,85%, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* в 14,29% случаев, что может служить маркером прогнозирования развития воспалительных заболеваний пародонта (диаг.2).

При анализе данных морфологических исследований биоптатов слизистой десен с клинически интактным пародонтом и хроническим гингивитом микроциркуляция была нарушена. Наиболее интенсивно кровоснабжение отмечалось в сосочковом слое, где наблюдались разнокалиберные капилляры с расширенным и свободным просветом (рис.1).

В сетчатом слое обнаруживались признаки облитерации просвета сосудов и спазмирования. Часто в сосудах выявлялось полнокровие и стаз форменных элементов крови (рис. 2).

При морфологическом анализе биоптатов слизистой десны с ХГПЛС микроциркуляция также была нарушена в 39,5% случаев и наблюдались очаги кровоизлияний,

в одних случаях выявлялось полнокровие и стаз эритроцитов, в других - стеноз и облитерация просвета сосудов, васкулиты, микротромбозы и разрывы стенок сосудов (рис. 3).

В просвете сосуда выявлялись форменные элементы крови, которые агрегировались на люминальной поверхности внутренней стенки сосуда. Базальная мембрана кровеносных сосудов была с явными признаками разрушений, имела неоднородную хлопьевидную структуру с размытыми контурами, набухшая и рыхлая. В расщелинах базальной мембраны выявлялись перициты. Встречались также спавшиеся кровеносные сосуды (рис. 4,5,6)

Выводы

1. Используя качественный метод тест – системы ПЦР в исследуемых биотопах полости рта чаще всего выявлены представители облигатно-анаэробных микроорганизмов - *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, являющиеся маркерами развития воспалительного процесса и способствующие выраженному нарушению микроциркуляции в тканях пародонта у лиц молодого возраста.

2. В группе лиц с КИП и хроническим гингивитом в 18% и 51% случаях микроциркуляция интенсивно нарушена. В сосочковом слое выявлялись новообразованные капилляры, а в сетчатом - облитерация, спазм, разрыв сосудов.

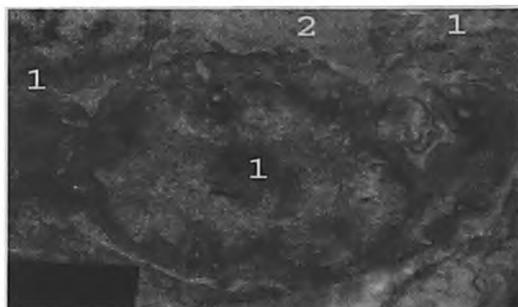


Рис. 1. Хронический катаральный гингивит. Капилляр сосочкового слоя десны. Эндотелиальные клетки (1). Просвет капилляра (2). Электронная микрофотография. Увеличение x 10000.

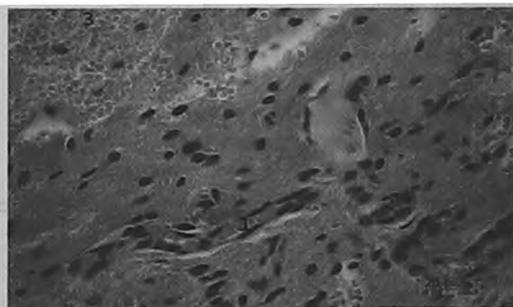


Рис. 2. Хронический генерализованный катаральный гингивит. Стаз эритроцитов в просвете сосуда (1). Облитерация и спазм (2). Кровоизлияние (3). Окраска гематоксилином и эозином.



Рис. 3. Хронический локализованный пародонтит легкой степени тяжести. Кровонизлияние (1), стаз эритроцитов (2), спазм сосудов (3), васкулит (4). Окраска гематоксилином и эозином.

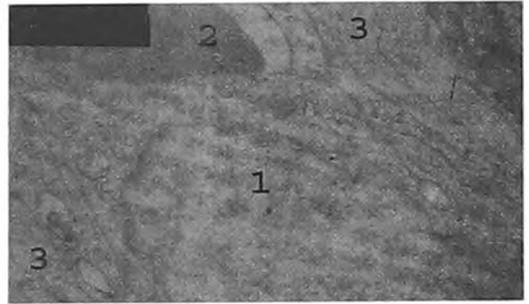


Рис. 4. Хронический локализованный пародонтит легкой степени тяжести. Капилляр с набухшими эндотелиоцитами (1), эритроцит в просвете сосуда (2), набухшая базальная мембрана (3). Электронная микрофотография. Увеличение x 10000.

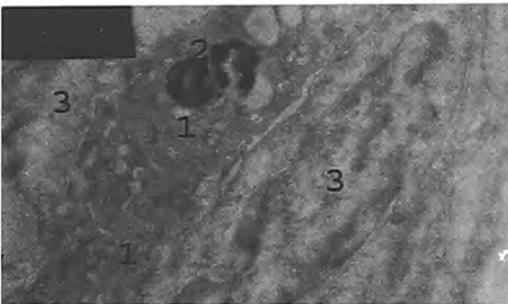


Рис. 5. Хронический локализованный пародонтит легкой степени тяжести. Скопление тромбоцитов в просвете капилляра (1), липидные капли (2), эндотелиоциты (3). Электронная микрофотография. Увеличение x 14000.

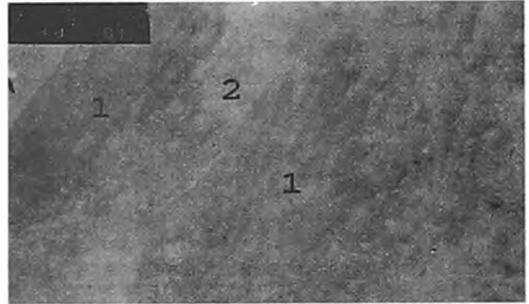


Рис. 6. Пародонтит легкой степени тяжести. Редукция капилляра. Гипертрофированные эндотелиоциты (1), облитерация просвета сосуда (2). Электронная микрофотография. Увеличение x 10000.

3. При ХГКГ в 39,5 % случаев наблюдались очаги кровонизлияний, в одних случаях выявлялось полнокровие и стаз эритроцитов, в других - стеноз и облитерация просвета сосудов, васкулиты, микротромбозы и разрывы стенок сосудов.

Таким образом, при комплексном микробиологическом и морфологическом исследовании вне зависимости от клинического состояния тканей пародонта, выявлено наличие пародонтопатогенов, которые в процессе своей жизнедеятельности образуют метаболиты проникающие через эпителий десны и вызывающие ряд патологических изменений в соединительной ткани, в результате чего в сосочковом слое десны наблюдается выраженное нарушение микроциркуляции. ■

Усманова Ирина Николаевна – д.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Аль-Кофши Махаммед Али Махаммед, аспирант кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Лебедева Анна Ивановна - д.б.н., старший научный сотрудник отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, г. Уфа, Хуснарязанова Рауза Фазыловна - к.б.н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, Усманов Ирек Рамимович – к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Автор, ответственный за переписку - Усманова Ирина Николаевна, г. Уфа, ул. Ленина, 3, E-mail: irinausma@mail.ru.

Литература:

1. Булкина, Н.В. *Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н.В. Булкина, В.М. Моргунова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 416 – 420. 15*
2. *Методы функциональной диагностики в стоматологии. Научно-практическое руководство. Под ред. Янушевича О.О., Логинова Н.К. Ермольев С.Н., Белоусова М.К. М.: Издательство МГМСУ;*

- 2014.
3. Орехова Л. Ю. *Заболевания пародонта*. – М.: Поли Медиа Пресс, 2004. – 432 с.
 4. Орехова Л. Ю., Кудрявцева Т. В., Чеминава Н. Р., Тачалов В. В., Лобода Е. С. *Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы)* // *Пародонтология*. 2014. №2 (71). С. 3-5.
 5. *Пародонтология : национальное руководство* / Под ред. проф. Л.А. Дмитриевой. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 712с.
 6. Усманова И.Н. *Стоматологический статус лиц молодого возраста* // *Ж. Фундаментальные исследования* № 12 . 2013. – с.546-549.
 7. Усманова И.Н. *Особенности микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды* // *Клиническая стоматология*, 2011. - № 3. - С. 94-96.
 8. Усманова И.Н., Лебедева А.И. Герасимова Л.П. и соавт. *Морфогенез ранних стадий воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды.* // *Клиническая стоматология*, 2011. - №4 . - С. 94-96.
 9. Tatakis D.N., Kumar P.S. *Etiology and pathogenesis of periodontal diseases* // *Dent. Clin. North. Am.* 2005. - Vol. 49, № 3. - P. 491 - 516.