

УДК 616.37/Д48

А. А. Галагдина

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

МІКРОБНА ЕКОЛОГІЯ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ ПОРУШЕННЯМ КРОВООБІГУ В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ

Ключові слова: цукровий діабет,
каротидна ішемія-реперфузія,
мукозна мікрофлора ротової
порожнини.

Резюме. Досліджено мікробну екологію приєпителіальної біоплівки слизової оболонки ротової порожнини щурів зі стрептозоточин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим гострим порушенням кровообігу в басейні сонних артерій. Встановлено, що на 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії-реперфузії у тварин із чотиримісячним діабетом в приєпителіальній біоплівці слизової оболонки ротової порожнини виникає дефіцит автохтонних облигатних пропіоновокисних бактерій, лактобактерій, коагулазонегативних стафілококів, сарцин та аеробних грампозитивних стрептобацил, а також контамінація і колонізація слизової умовно патогенними клостридіями, ентеробактеріями, коагулазопозитивними стафілококами, дріжджоподібними грибами роду *Candida* з розвитком дисбіозу та кандидамікозу.

Вступ

Слизова оболонка порожнини рота колонізована понад 200 видами мікроорганізмів [6, 10, 11], що створює високий потенціал для розвитку бактеріальних і грибкових інфекцій і потребує для їх стримання потужних захисних механізмів. У нормі між мікроорганізмами і тканинами ротової порожнини існують тонкі механізми взаємозв'язку і взаємодії [9, 15, 17, 19], порушення яких під впливом різних чинників системного (цукровий діабет, ВІЛ-інфекція, імуносупресивна терапія, синдром Шегрена, променева терапія раку голови і шиї тощо) і локального характеру (пломби, ортодонтичне та ортопедичне лікування дефектів і деформацій щелепно-лицевої системи, екстракції зубів та ін.) призводить до змін мікробного симбіозу в порожнині рота, які стають передумовою розвитку патологічних станів [7, 8, 12]. Дисфункція системи імунітету, притаманна цукровому діабету (ЦД), поєднана з тривалою персистенцією мікробних асоціацій, які постійно знаходяться в порожнині рота, призводить до пошкодження її тканин та розвитку тяжких ускладнень [13, 20].

Тривала гіперглікемія є предиктором порушень церебрального кровообігу, які часто стають причиною смерті хворих на ЦД [14, 18]. Гострі

розлади мозкового кровообігу характеризуються не лише церебральними дисфункціями, але й системними та органоспецифічними порушеннями [1, 4]. Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що в щурів із чотиримісячним ЦД має місце контамінація слизової ротової порожнини умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які в цьому біотопі досягають помірного та високого популяційного рівня [2]. Однак даних про стан мікробіоти даного біотопу при ускладненні ЦД ішемією мозку ми не знайшли.

Мета дослідження

Вивчити стан мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини у тварин з експериментальним цукровим діабетом, поєднаним із порушеннями мозкового кровообігу в басейні сонних артерій.

Матеріал і методи

Цукровий діабет моделювали однократним внутрішньочеревним введенням щурам двомісячного віку стрептозоточину (*Sigma*, США, 60 мг/кг маси тіла) [3]. У дослід брали щурів із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л. По досягненні тварина-

ми шестимісячного віку в частини з них, а також у контрольних щурів аналогічного віку моделювали двобічну каротидну ішемію-реперфузію кліпсуванням загальних сонних артерій протягом 20 хв. Тварин виводили з експерименту на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду. Експеримент та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) враховуючи міжнародні принципи Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвалу Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

Показники мікрофлори (якісні та кількісні) в мікробіоценозі приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки ротової порожнини визначали бактеріологічним та мікологічним дослідженням з подальшим розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнтів кількісного домінування (ККД) та значущості (КЗ) кожного виду (родина) мікроорганізму [5, 16].

Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Обговорення результатів дослідження

Результати вивчення видового стану мікробіоти приєпітеліальної біоплівки слизової порож-

нини рота тварин із ЦД, поєднаним із каротидною ішемією-реперфузією, наведені в табл. 1.

За кількістю виділених штамів, індексом постійності та частотою зустрічання константними мікроорганізмами, що персистують на слизовій оболонці порожнини рота тварин із поєднанням ЦД та каротидної ішемії-реперфузії, залишаються тільки сарцини та стрептобацили, інші за перерахованими показниками втратили статус константних. Натомість, константними мікроорганізмами стають дріжджоподібні гриби роду *Candida*, умовно патогенні коагулазопозитивні стафілококи, ентеробактерії (ішерихії та клебсієли); часто зустрічаються бактерії роду *Clostridium* та коагулазонегативні стафілококи; нечасто – лактобактерії; елімінують пропіоновокисні бактерії.

Таким чином, при ускладненні ЦД каротидною ішемією, з приєпітеліальної біоплівки елімінують пропіоновокисні бактерії, лактобактерії, сарцини, коагулазонегативні стафілококи. На цьому фоні здійснюється контамінація слизової оболонки умовно патогенними кластридіями, коагулазопозитивними стафілококами, ентеробактеріями (клебсієлами, спірохетами) та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Кількісні показники мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини тварин із ЦД та каротидною ішемією-реперфузією представлені в табл. 2.

Таблиця 1

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини тварин із цукровим діабетом та каротидною ішемією-реперфузією

Мікроорганізми	Діабет та ішемія-реперфузія (n=5)			Контроль (n=5)			P
	виділено штамів	індекс постійності	частота зустрічання	виділено штамів	індекс постійності	частота зустрічання	
1. Анаеробні бактерії							
Лактобактерії	1	20,0	0,04	4	80,0	0,19	<0,05
Пропіоновокисні бактерії	0	-	-	2	40,0	0,10	
Бактерії роду <i>Clostridium</i>	2	40,0	0,08	0	-	-	
2. Аеробні та факультативні анаеробні мікроорганізми							
Сарцини	3	60,0	0,12	5	100,0	0,24	
Коагулазонегативні стафілококи	2	40,0	0,08	5	100,0	0,24	<0,05
Коагулазопозитивні стафілококи	4	80,0	0,16	0	-	-	
Стрептобацили	4	80,0	0,16	4	80,0	0,19	
Ешерихії	2	40,0	0,08	0	-	-	
Клебсієли	2	40,0	0,08	0	-	-	
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	5	100,0	0,20	0	-	-	

Таблиця 2

Популяційний рівень ($M \pm m$) мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини тварин із цукровим діабетом та каротидною ішемією-реперфузією

Мікроорганізми	Діабет та ішемія-реперфузія (n=5)			Контроль (n=5)			P
	популяційний рівень (lg КЦД/т)	ККД	КЗ	Популяційний рівень (lg КЦД/т)	ККД	КЗ	
1. Анаеробні бактерії							
Лактобактерії	3,00±0,08	15,7	0,03	4,21±0,14	75,2	0,18	<0,05
Пропіоновокисні бактерії	0	-	-	3,37±0,09	30,1	0,08	
Бактерії роду Clostridium	4,30±0,01	45,1	0,09	0	-	-	
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Сарцини	3,95±0,09	62,2	0,12	4,89±0,09	109,2	0,26	<0,05
Коагулазонегативні стафілококи	2,97±0,12	31,2	0,06	4,92±0,02	109,8	0,26	<0,05
Коагулазопозитивні стафілококи	4,17±0,14	87,6	0,18	0	-	-	
Стрептобацили	2,19±0,04	46,0	0,09	5,00±0,13	89,3	0,21	<0,05
Ешерихії	4,84±0,06	50,8	0,10	0	-	-	
Клебсієли	4,10±0,03	43,0	0,09	0	-	-	
Дріжджоподібні гриби роду Candida	4,77±0,05	125,2	0,25	0	-	-	

Примітка. ККД – коефіцієнт кількісного домінування; КЗ – коефіцієнт значущості

За популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості доміантними бактеріями в даному біотопі залишаються сарцини, але статусу доміантних мікроорганізмів набувають також умовно патогенні коагулазопозитивні стафілококи, ешерихії та дріжджоподібні гриби роду Candida. Останні стають провідними в мікробіоті приепітеліальної біоплівки, що можна розцінювати як розвиток кандидамікозу слизової оболонки порожнини рота. Порушення церебрального кровообігу на тлі ЦД супроводжується змінами кількісного складу автохтонних облігатних та факультативних умовно патогенних мікроорганізмів, які характеризуються елімінацією (пропіоновокисні бактерії) або вираженим дефіцитом автохтонних облігатних для даного біотопу лактобактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил. На цьому фоні настає контамінація та колонізація слизової оболонки ротової порожнини умовно патогенними кластридіями, коагулазопозитивними стафілококами, ентеробактеріями (клебсієлами, ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду Candida). Високий популяційний рівень останніх свідчить про розвиток кандидамікозу слизової оболонки порожнини рота.

Висновок

У тварин із чотиримісячним цукровим діабетом на 12-ту добу після моделювання порушення

кровообігу в басейні сонних артерій елімінація автохтонних облігатних пропіоновокисних бактерій, сарцин лактобактерій, коагулазонегативних стафілококів та аеробних грампозитивних стрептобацил призводить до їх дефіциту в приепітеліальній біоплівці слизової оболонки ротової порожнини, а також – контамінації і колонізації слизової умовно патогенними кластридіями, ентеробактеріями, коагулазопозитивними стафілококами та дріжджоподібними грибами роду Candida. Наявність останніх у даному біотопі у високому популяційному рівні засвідчує формування дисбіозу з розвитком кандидамікозу.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення за даних експериментальних умов мікробіоти слизової товстої кишки.

Література. 1. Влияние окклюзионной ишемии мозга на функциональное состояние внутренних органов / Л.В. Молчанова, Г.Н. Чернобаева, Л.Н. Щербакова, Л.Д. Лукьянова // Анестезиол. и реаниматол. – 2001. – №6. – С. 54-56. 2. Галагдина А.А. Микробна екологія приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки ротової порожнини шурів з експериментальним цукровим діабетом / А.А. Галагдина, С.С. Ткачук, І.Й. Сидорчук // Клін. та експерим. патол. – 2012. – Т. XI, №2 (40). – С. 34-37. 3. Леньков О.М. Стан тканинного протеолізу та фібринолізу в корі головного мозку і гіпокампа за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-шурів / О.М. Леньков // Бук. мед. вісник. – 2009. – №3. – С. 115-118. 4. Малахов В.О. Стрес-відповідь імунонейроендокринної системи при церебральній ішемії (огляд літератури) / В.О. Малахов, В.О. Монастирський, О.І. Коленко // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2009. – №1. – С. 141-151. 5. Основные методы лабораторных исследований

в клинической бактериологии / Руководство ВОЗ.- Женева, 1994. – 132 с. 5. Adherence to Streptococci Facilitates *Fusobacterium nucleatum* Integration into an Oral Microbial Community / X.He, W.Hu, C.W. Kaplan [et al.] // *Microbial Ecology* - 2012.- Vol. 63, Is.3. - P. 532-542. 7. Al-Nawas B. Prospective study of the long term change of the oral flora after radiation therapy / B. Al-Nawas, K.A. Grotz // *Support Care Cancer*. – 2006. – Vol.14, №3. – P. 291-296. 8. Ashraf F. F. Diabetes mellitus as a modulating factor of endodontic infections / F.F. Ashraf // *J. Dental Educ.* – 2003. – Vol.67, № 4. – P. 459-467. 9. Bacterial interactions in dental biofilm development / K.Hojo, S.Nagaoka, T.Ohshima, N.Maeda // *J. Dent. Res.* – 2009.– Vol.88, №11.– P. 982-990. 10. Chavez de Paz L.E. Gram-positive rods prevailing in teeth with apical periodontitis undergoing root canal treatment / L.E.Chavez de Paz, A.Molander, G.Dahlen // *Int. Endod. J.* - 2004. - Vol.37, №9. - P.579-587. 11. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity / H.Yli-Knuutila, J. Snall, K.Kari, J.H.Meurman // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2006. – Vol.21, №2. – P. 129-131. 12. Dental Caries Increments and Related Factors in Children with Type 1 Diabetes Mellitus / J. Siudikiene, V. Machiulskiene, B. Nyvad, J. Tenovuo [et al.] // *Caries Res.* – 2008. – Vol.42, №5 – P. 354-362. 13. Factors affecting the prevalence of yeasts in the oral cavity of patients with diabetes mellitus / A.R. Khosravia, S. Yarahmadib, M. Baiata [et al.] // *J. Med. Mycol.* – 2008. – Vol. 18, Is. 2. – P. 83-88. 14. Glymour M.M. Can Self-Reported Strokes Be Used to Study Stroke Incidence and Risk Factors? / M.M.Glymour, M.Avendano // *Stroke*. – 2009. – Vol.40, №3. – P.873-879. 15. Huang R. Bacterial interactions in dental biofilm / R. Huang, M. Li, R.L. Gregory // *Virulence*. – 2011. – Vol.2, №5. – P. 435-444. 16. Influence of sample type and collection method on *Streptococcus* mutans and *Lactobacillus* spp counts in the oral cavity / C.Motisuki, L.M.Lima, D.M.Spolitorio, L.Santos-Pinto // *Arch. Oral Biol.* - 2005.- Vol.50, №3. - P. 341-345. 17. Ramsey M.M. Polymicrobial interactions stimulate resistance to host innate immunity through metabolite perception / M.M.Ramsey, M.Whiteley // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol.106, №5. – P.1578-1583. 18. Risk-factor profile for the incidence of subarachnoid and intracerebral haemorrhage, cerebral infarction, and unspecified stroke during 21 years' follow-up in men / L.L.Haheim, I.Holme, I.Hjermann [et al.] // *Scand. J. Public Health.* – 2006. – № 34. – P.589-597. 19. Roles of Salivary Components in *Streptococcus* mutans Colonization in a New Animal Model Using NOD/SCID.e2f1" / Mice / T.Ito, T.Maeda, H.Senpuku // *PLoS One.* – 2012. – Vol.7, №2. – P. 32063. 20. The microbiological profiles of saliva, supragingival and subgingival plaque and dental caries in adults with and without type 2 diabetes mellitus / H.J.Teanpaisan, V.Chondsuvivatwong, C.Ratasaran, G.Dahlen // *Oral microbiol. Immunol.* – 2007. – Vol.22. – P.175-181.

МИКРОБНАЯ ЭКОЛОГИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ НАРУШЕНИЕМ КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАССЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ

А.А. Галагдина, С.С.Ткачук, И.И.Сидорчук

Резюме. Исследована микробная экология приэпителиальной биопленки слизистой оболочки ротовой полости крыс со стрептозотцин-индуцированным сахарным диабетом, осложненным острым нарушением кровообращения в бассейне сонных артерий. Установлено, что на 12-е сутки после моделирования каротидной ишемии-реперфузии у животных с четырехмесячным сахарным диабетом в приэпителиальной биопленке слизистой оболочки полости рта возникает дефицит автохтонных облигатных пропионовых бактерий, лактобактерий, коагулазоотрицательных стафилококков, сарцин и аэробных грамположительных стрептобацилл, а также контаминация и колонизация последней условно патогенными клостридиями, энтеробактериями, коагулазопозитивными стафилококками, дрожжеподобными грибами рода *Candida* с развитием дисбиоза и кандидамикоза.

Ключевые слова: сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, мукозная микрофлора ротовой полости.

MICROBIAL ECOLOGY OF THE ORAL MUCOSA OF RATS WITH DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY VIOLATION OF BLOOD CIRCULATION IN CAROTID ARTERY BASIN

A.A. Galagdina, S.S. Tkachuk, I.Io. Sydorчук

Abstract. The microbial ecology of periepithelial biofilm of oral cavity mucosa in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus, complicated by acute blood circulation disorders in the carotid arteries basin has been investigated. Their has been established deficiency of autochthonic obligate propionic acid bacteria, lactobacteria, coagulase-negative staphylococci, sarcina and aerobic gram-positive streptobacilli in periepithelial biofilm of oral cavity mucosa and contamination and colonization of the mucosa by conditionally pathogenic clostridia, enterobacteria, coagulase-positive staphylococci and yeast-like fungi of the genus *Candida* with the development of dysbiosis and candidiasis on the 12th day after modeling carotid ischemia-reperfusion in animals with four-month diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, oral mucosa microflora.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2012.- Vol.11, №4 (40).-P.44-47.

Надійшла до редакції 07.02.2012

Рецензент – проф. С.С. Дейнека

© А. А. Галагдина, 2012