

УДК 616.37/Д48

А.А. Галагдина
С.С. Ткачук
І.Й. Сидорчук

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

МІКРОБНА ЕКОЛОГІЯ ПРИЕПІТЕЛІАЛЬНОЇ БІОЛОГІЧНОЇ ПЛІВКИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

Ключові слова: цукровий діабет,
ротова порожнина, мукозна
мікрофлора.

Резюме. Досліджено вплив стрептозотоцину-індукованого цукрового діабету на мікробну екологію приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки ротової порожнини. Встановлено, що в щурів із чотиримісячним цукровим діабетом виникають якісні та кількісні зміни складу мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини за рахунок елімінації з приепітеліальної біоплівки або формування вираженого дефіциту автохтонних облигатних пропіоновокислих бактерій, лактобактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил і контамінації даного біотопу умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Вступ

Порожнина рота є унікальною екологічною системою для найрізноманітніших мікроорганізмів, від тих, що формують автохтонну облигатну та факультативну мікрофлору, до алохтонних мікроорганізмів, що потрапляють до рота із зовнішнього середовища або з інших біотопів власного організму [9, 11-13]. Більшість умовно патогенних мікроорганізмів у складі нормальної мікробіоти за певних умов відіграють суттєву роль в етіології і патогенезі карієсу, захворювань пародонту та слизової оболонки порожнини рота [2, 3, 10]. Зазвичай, значна кількість ефективних захисних бар'єрів у вигляді ротової рідини з її антибактеріальними властивостями і бактерицидними компонентами (імуноглобуліни, особливо секреторний імуноглобулін А, лізоцим, ферменти та ін.), а також потужного епітеліального покриву, обмежує можливість оральних мікроорганізмів викликати патологічні зміни [3, 15, 15]. Але в ряді випадків фактори неспецифічного протиінфекційного захисту порожнини рота не можуть протистояти патогенним та умовно патогенним мікроорганізмам. У першу чергу, це стосується пацієнтів, у яких формується набутий імунодефіцитний стан або захворювання, при яких дефекти механізмів протиінфекційного захисту (неспецифічної ефекторної системи протиінфекційного захисту, гуморальної та клітинної імунної ланки) сприяють активації умовно-патогенних мікроорганізмів. До таких захворювань

належить і цукровий діабет [1, 4, 5, 7, 16]. Однак, із відомих причин, у людей подібні визначення проводяться в ротовій та ясенній рідині, а комплексні дослідження, спрямовані на вивчення якісного та кількісного складу мікробіоти приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки (мукозної мікрофлори) ротової порожнини відсутні.

Мета дослідження

вивчити видовий склад мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на білих нелінійних самцях щурів. Цукровий діабет (ЦД) моделювали шляхом однократного внутрішньочеревного введення щурам двомісячного віку стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) [8]. Тварин виводили з експерименту через чотири місяці від початку моделювання діабету. У дослід брали щурів із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л.

Показники мікрофлори (якісні та кількісні) визначали шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження з подальшим розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнта кількісного домінування (ККД) та значущості (КЗ) кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі приепітеліальної біоплівки слизової оболонки ротової порожнини [6, 14].

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

Обговорення результатів дослідження
Результати досліджень наведені у таблиці 1. Вони свідчать, що в інтактних тварин константними мікроорганізмами слизової оболонки по-

Таблиця 1

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини експериментальних тварин з довготривалою ішемією (реперфузією) головного мозку

Мікро-організми	Цукровий діабет (n=5)			Контроль (n=5)			p
	виді-лено штамів	індекс постійності	частота зустрічання	виді-лено штамів	індекс постійності	частота зустрічання	
1. Анаеробні бактерії							
Лактобактерії	2	40,0	0,10	4	80,0	0,19	p<0,05
Пропіоново-кисні бактерії	0	-	-	2	40,0	0,10	
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Сарцини	3	60,0	0,15	5	100,0	0,24	p<0,05
Коагулазонегативні стафілококи	4	80,0	0,20	5	100,0	0,24	
Коагулазопозитивні стафілококи	2	40,0	0,10	0	-	-	
Стрептобацили	5	100,0	0,25	4	80,0	0,19	
Ешерихії	1	20,0	0,05	0	-	-	
Дріжджоподібні гриби роду Candida	3	60,0	0,15	0	-	-	

Примітка. p – достовірність змін порівняно з контролем

Таблиця 2

Популяційний рівень (M+m) мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини у щурів з експериментальним цукровим діабетом

Мікроорганізми	Цукровий діабет (n=5)			Контроль (n=5)			P
	Популяційний рівень (lgКЦД/т)	ККД	КЗ	Популяційний рівень (lgКЦД/т)	ККД	КЗ	
1. Анаеробні бактерії							
Лактобактерії	3,58+ 0,15	43,0	0,11	4,21+ 0,14	75,2	0,18	p<0,05
Пропіоновокислі бактерії	0	-	-	3,37+ 0,09	30,1	0,08	
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Сарцини	3,89+ 0,06	66,3	0,17	4,89+0,09	109,2	0,26	p<0,001
Коагулазонегативні стафілококи	4,09+0,04	93,0	0,23	4,92+0,02	109,8	0,26	p<0,001
Коагулазопозитивні стафілококи	3,79+0,07	86,1	0,11	0	-	-	
Стрептобацили	3,20+0,04	90,9	0,23	5,00+0,13	89,3	0,21	p<0,001
Ешерихії	2,0	11,4	0,03	0	-	-	
Дріжджоподібні гриби роду Candida	3,86+0,04	65,8	0,16	0	-	-	

Примітка. ККД – коефіцієнт корисного домінування; КЗ- коефіцієнт значущості; p – достовірність змін порівняно з контролем

рожнини рота виступають аеробні та факультативно анаеробні сарцини, коагулазонегативні стафілококи, лактобактерії та аеробні грампозитивні стрептобацили, часто зустрічаються пропіоновокислі бактерії.

У тварин із ЦД константними мікроорганізмами за індексом постійності та частотою зустрічання стають коагулазонегативні стафілококи, сарцини, аеробні грампозитивні стрептобацили, лактобактерії, ешерихії та коагулазопозитивні стафілококи; часто зустрічаються дріжджоподібні гриби роду *Candida*, що свідчить про значні якісні зміни мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини. Ці зміни обумовлені тим, що за умов ЦД настає елімінація автохтонних фізіологічно корисних лактобактерій, пропіоновокислих бактерій. На цьому фоні здійснюється контамінація слизової оболонки ротової порожнини умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, алохтонними для цього біотопу ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Результати вивчення кількісного складу мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини експериментальних тварин з ЦД наведено у таблиці 2.

За популяційним рівнем, ККД та КЗ доміантними мікроорганізмами приєпітеліальної біоплівки ротової порожнини тварин із ЦД залишаються аеробні стрептобацили та сарцини, коагулазонегативні стафілококи, а також стають доміантними умовно патогенні коагулазопозитивні стафілококи та дріжджоподібні гриби роду *Candida*, що засвідчує порушення мікробіоти вказаного біотопу. За популяційним рівнем показано дефіцит автохтонних облігатних для цього біотопу лактобактерій, пропіоновокислих бактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил. На цьому фоні популяційний рівень мікроорганізмів, що контамінували слизову оболонку ротової порожнини, досяг помірного рівня, що демонструє її колонізацію. За популяційним рівнем, ККД позитивні стафілококи (золотистий стафілокок) та умовно патогенні алохтонні для цього біотопу ешерихії стають доміантними, що формує ризик виникнення запального процесу у ротовій порожнині.

У щурів із ЦД виявлено не тільки зміни видового складу мікробіоти, а також зміни популяційного рівня (кількісних показників) мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини. На слизовій оболонці формується суттєвий дефіцит лактобактерій ($p < 0,05$), сарцин ($p < 0,001$), аеробних грампозитивних стрептобацил та коагулазонегативних стафілококів ($p < 0,001$). Таким чином, при формуванні експериментального ЦД у щурів відмічається виражений дефіцит на слизовій обо-

лонці автохтонних облігатних для цього біотопу лактобактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил, що породжує ризик контамінації слизової оболонки патогенними та умовно патогенними автохтонними факультативними та алохтонними мікроорганізмами. При цьому настає контамінація приєпітеліальної біоплівки слизової оболонки ротової порожнини умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які у цьому біотопі досягають помірного та високого популяційного рівня.

Висновок

1. Чотиримісячний стрептозотозин-індукований цукровий діабет у щурів супроводжується негативними змінами як якісного, так і кількісного складу мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини за рахунок елімінації з приєпітеліальної біоплівки або формування вираженого дефіциту автохтонних облігатних пропіоновокислих бактерій, лактобактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил та контамінації слизової оболонки ротової порожнини умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, ешерихіями та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які в цьому біотопі досягають помірного та високого популяційного рівня.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення мікробіоти слизової оболонки ротової порожнини при поєднанні цукрового діабету з гострим порушенням мозкового кровообігу в басейні сонних артерій.

Література. 1. Амирасланов Ю.Ф., Земляной А.Б. Сахарный диабет и хирургическая инфекция // Лекции по гнойной хирургии / под ред. В.Д.Федорова, А.М.Светухина. М., 2005. - С. 137-152. 2. Григорьян А.С. Роль и место феномена повреждения в патогенезе заболевания пародонта / А.С.Григорьян // Стоматология. - 1999. - №1. - С.17-20. 3. Зубачик В.М. Місцева гуморальна протибактеріальна резистентність у хворих на генералізований пародонт / В.М.Зубачик, М.В.Ліснічук, Г.О.Потьомкіна // Современ. стоматол. - 2009. - №1. - С.38-42. 4. Имунний статус хворих на цукровий діабет, що страждають на дисбактеріоз кишечника / [Сидорчук І.Й., Масляк В.А., Паньків В.І. та ін.] // Актуальні питання клініко-лабораторної діагностики захворювань людини. - Чернівці, 2001. - С. 22-23. 5. Козлов В.А. Особенности течения воспалительных заболеваний одонтогенной этиологии у больных сахарным диабетом / В.А.Козлов // Мед. акад. журн. - 2008. - Т.8, №1. - С. 242-247. 6. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / Руководство ВОЗ. - Женева, 1994. - 132 с. 7. Особенности обследования и лечения генерализованного парадонтита на фоне сахарного диабета / И.Я.Пиекалните, Г.Н.Саввиди, В.В.Битюков // Матер. X Междунар. конф. челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. - СПб., 2007. - С. 187-188. 8. Ткачук С.С. Експресія білків Hif-1 α , p53 та Bcl-2 в головному мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету в самців-щурів / С.С. Ткачук, О.М. Леньков // Клін. та експерим. патол. - 2010. - Т.IX, №2(32). - С.111-113.

9. 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. 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. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature / C. Badet, N. B. Thebaud // *Open Microbiol. J.* - 2008. - №2. - P. 38-48. 13. Filoche S. K. Biofilm growth of Lactobacillus species is promoted by Actinomyces species and Streptococcus mutans / S. K. Filoche, S. A. Anderson, C. H. Sissons // *Oral Microbiol. Immunol.* - 2004. - Vol. 19, №5. - P. 322-326. 14. 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. Spolidorio, L. Santos-Pinto // *Arch. Oral Biol.* - 2005. - Vol. 50, №3. - P. 341-345. 15. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries / K. L. Chhour, M. A. Nadkarni, R. Byun [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* - 2005. - Vol. 43, №2. - P. 843-849. 16. 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.

МИКРОБНАЯ ЭКОЛОГИЯ ПРИЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛЕНКИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

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

Резюме. Исследовано влияние стрептозоцин-индуцированного сахарного диабета на микробную экологию приэпителиальной биологической пленки слизистой оболочки ротовой полости. Показано, что у крыс с четырехмесячным сахарным диабетом возникают качественные и количествен-

ные изменения состава микробиоты слизистой оболочки ротовой полости за счет элиминации из приэпителиальной биопленки или формирования выраженного дефицита автотонных облигатных пропионовых бактерий, лактобактерий, сарцин, коагулазонегативных стафилококков и аэробных стрептобацилл и контаминации данного биотопа условно патогенными коагулазопозитивными стафилококками, ешерихиями и дрожжеподобными грибами рода Candida.

Ключевые слова: сахарный диабет, ротовая полость, мукозная микрофлора.

MICROBE ECOLOGY OF THE PERIEPITHELIAL BIOLOGICAL FILM OF THE ORAL MUCOSA IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

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

Abstract. The influence of streptozotocin-induced diabetes mellitus upon a microbial ecology of a periepitelal biofilm of oral mucosa has been investigated. It is shown that in rats with a four-month diabetes occur qualitative and quantitative changes in the composition of the microbiota of the mucous membrane of the mouth due to the elimination of periepitelal biofilm formation or pronounced lack of autochthonic obligate propionic acid bacteria, lactobacteria, sarcina, coagulase-negative staphylococci and aerobic streptobacilli and contamination of this biotope by the conditionally pathogenic coagulase-positive staphylococci, escherichiae and yeast-like fungi of the genus Candida.

Key words: diabetes mellitus, oral cavity, mucosa microflora.

Bucovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol. 11, №2(40). - P. 37-40.

Надійшла до редакції 25.05.2012

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© А.А. Галагдина, С.С. Ткачук, І.І. Сидорчук, 2012