

# ИЗМЕНЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ПАРОДОНТА И ЕГО МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ РАЗВИТИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

КАЛИЧКИНА Е.Л.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, г. Кемерово, Россия

## ORIGINAL ARTICLE

## PERIODONTAL MICROBIOTA AND STRUCTURE IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS

ELENA L. KALICHKINA

*Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056),  
Russian Federation*

### Резюме

**Цель.** Изучение изменений бактериальной структуры и морфо-функционального состояния пародонта при развитии воспалительного процесса.

**Материалы и методы.** Количественное микробиологическое исследование с культивированием анаэробных микроорганизмов эксудата пародонтальных карманов и десневой жидкости и основные географические показатели микроциркуляции изучали у 60 пациентов в возрасте 20-49 лет. Для морфологического исследования использовали биоптаты межзубных десневых сосочков. Срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, пирюфуксином по Ван-Гизону с докраской эластических компонентов резорцин-фуксином Вейгерта, азуром.

**Результаты.** При интактном пародонте в содержимом десневой борозды доминировали представители стабилизирующей резидентной микрофлоры.

С развитием воспаления в пародонте изменялась структура его бактериального сообщества. Количество и концентрация представи-

телей стабилизирующей резидентной микрофлоры снижалось, а данные показатели пародонтопатогенных видов увеличивались, что свидетельствовало о том, что для инициации воспалительного процесса важен не только негативный потенциал пародонтопатогена, но и количество, и концентрация стабилизирующей микрофлоры.

**Заключение.** С развитием воспалительного процесса происходит нарушение баланса между организмом и его микрофлорой – с одной стороны, и с другой стороны – нарушение равновесия внутри микробной ассоциации. При длительно протекающем воспалительном процессе с усилением факторов агрессии анаэробной микрофлоры механизмы компенсации не способны поддерживать баланс в тканях. Это приводит к комплексу необратимых реакций в системе микроциркуляции пародонта и развитию деструктивных изменений в его тканевых структурах.

**Ключевые слова:** пародонтит, пародонтопатогенные микроорганизмы, гемодинамические показатели, морфологическая структура пародонта.

### Abstract

**Aim.** To investigate how periodontitis affects

periodontal structure and microbiota.

**Materials and Methods.** We cultured anaero-

◀ English

bic microorganisms from the periodontal exudate and gingival fluid and performed microcirculation rheography in 60 patients (20-49 years of age). Histological examination of interdental papillae was performed using hematoxylin and eosin staining, van Gieson staining with the further Weigert's resorcin fuchsin, and azure staining.

**Results.** Intact periodontal tissues were characterized by stabilizing resident microbiota, which,

however, was gradually superseded by pathogenic microbiota.

**Conclusions.** Inflammation induces colonization of periodontal tissues by pathogenic microbiota that further alters microcirculation and causes destruction of periodontal tissues.

**Keywords:** periodontitis, anaerobic microorganisms, hemodynamic parameters, periodontal structure.

## Введение

Многочисленные данные экспертов научной группы Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) свидетельствуют о том, что заболевания пародонта относятся к наиболее распространённым болезням человека [1]. В структуре стоматологических заболеваний патология пародонта воспалительного характера занимает одно из ведущих мест и в настоящее время не имеет тенденции к снижению [1, 2].

Академические исследования позволили систематизировать концепции этиологии и патогенеза данной патологии. Бесспорно признано, что главная роль в этиологии воспалительных заболеваний пародонта отводится ассоциациям микроорганизмов [3, 4]. В 1996 году на Всемирном конгрессе по периодонтологии эти микроорганизмы были строго ассоциированы со статусом пародонтальной болезни и определены как пародонтальные патогены [1]. По степени патогенности они выделены в шесть основных комплексов [4, 5, 6, 7]. Именно с их размножением и инвазией в тканевые структуры пародонта связывают комплекс патологических изменений при наиболее распространённых формах патологии [8, 9, 10].

## Цель исследования

Изучение характера изменений бактериальной структуры и морфо-функционального состояния пародонта при развитии воспалительного процесса.

## Материалы и методы

Микробиологическое исследование микрофлоры пародонта и основные реографические показатели микроциркуляции изучали у 60 пациентов в возрасте 20-49 лет. Из них у 12 человек пародонт был интактным (20,0%), у 20 человек диагностирован хронический генерализованный пародонтит средней степени (33,3%), у 28 пациентов (46,7%) – тяжёлый пародонтит.

Исследование десневой жидкости и экссудата пародонтальных карманов проводили количественным бактериологическим методом. Культивирование анаэробных микроорганизмов проводили на среде Columbia Blood Agar (Himedia, Индия). Для создания анаэробных условий применяли анаэроостаты (BBL, США) и газогенерирующие пакеты Genbag anaer (BioMerieux, Франция). Идентификацию микроорганизмов осуществляли с помощью коммерческих тест систем ANAERO-TEST 23 (Lachema, Чехия), STAPHY-TEST 16 (Lachema, Чехия), STREPTO-TEST 16 (Lachema, Чехия). Результаты количественного исследования выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) в 1 мл десневой жидкости или экссудата пародонтального кармана.

Функциональную диагностику гемодинамических показателей пародонта проводили на базе ГБУЗ КО «Кемеровский клинико-диагностический центр» тетраполярным методом [9]. Для оценки кровенаполнения, эластичности и тонуса сосудов использовали основные реопародонтографические (РПГ) критерии: амплитуду быстрого кровенаполнения (а); основную амплитуду (в); амплитуду медленного кровенаполнения (с); амплитуду инцизуры дикротической волны (d); длительность анакротической фазы (α) (сек); время прохождения пульсовой волны (Т) (сек); амплитуду калибровочного сигнала (h); индекс периферического сопротивления (ИПС)=(d:a)×100%; индекс эластичности (ИЭ)=(a:c)×100%; показатель тонуса сосудов (ПТС)=(a:T)×100%; реографический индекс (РИ)=(в:h)×100% (Ом).

Морфологическое исследование проводили на базе ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер». Для морфологического исследования использовали биоптаты межзубных десневых сосочков. Тканевой материал фиксировали в 12% нейтральном формалине с последующей доводкой через спирты и

заливкой в целлоидин. Срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, пиррофуksiном по Ван-Гизону с докраской эластических компонентов резорцин-фуксином Вейгера, азуром и ставили ШИК-реакцию. Препараты исследовали в микроскопе с иммерсионным объективом  $\times 90$ .

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение ВХХР 006ВО92218 FAN 11). Количественные признаки РПГ представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  - среднее значение,  $m$  - стандартная ошибка среднего. Характер распределения переменных величин в рассматриваемой совокупности определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Сравнение изучаемых частот проводили с помощью критерия  $\chi^2$ . Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

## Результаты и обсуждение

Бактериологическое исследование позволило выявить 36 видов микроорганизмов и 127 их штаммов: 11 видов и 35 штаммов при интактном пародонте; 12 видов и 42 штамма при пародонтите средней степени тяжести; 13 видов и 50 штаммов при пародонтите тяжёлой степени.

При интактном пародонте с высокой частотой и концентрацией высевались представители стабилизирующей резидентной микрофлоры: в 100,0% при  $10^5$ - $10^6$  КОЕ/мл *Streptococcus sanguis*; в 50-75% при  $10^4$  КОЕ/мл – *Veilonella spp.*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp.*, *Actinomyces naeslundii*. Анаэробные стрептококки *Peptostreptococcus anaerobius* и *Peptostreptococcus intermedius* определялись в  $10^4$  КОЕ/мл при частоте 25-50% соответственно. Вместе с тем, у части обследованных в незначительной концентрации до  $10^3$  КОЕ/мл с частотой 25% выделены представители видов *Fusobacterium nucleatum* и гемолитические формы *Streptococcus millery*.

При пародонтите средней степени частота выделения *Streptococcus sanguis*, *Veilonella spp.*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp.*, *Actinomyces naeslundii* снизилась с 50-100% до 50-75%, а концен-

трация с  $10^5$  –  $10^6$  КОЕ/мл до  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл, а данные показатели для *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus millery*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus intermedius*, наоборот, увеличились до 35,0 - 50,0% при  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл соответственно.

При тяжёлом пародонтите установлено дальнейшее снижение количества и концентрации представителей стабилизирующей резидентной микрофлоры и увеличение данных показателей для пародонтопатогенных видов. Так, частота выделения и концентрация *Streptococcus sanguis*, *Veilonella spp.*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp.*, *Actinomyces naeslundii* снизилась до 35 - 50% при  $10^3$ -  $10^5$  КОЕ/мл, а количество и концентрация *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus millery*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus intermedius* возросли до 50-75% при  $10^5$ - $10^6$  КОЕ/мл соответственно. Кроме того, в 50% случаев при концентрации  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл высевалась *Fusobacterium necroforum*. Различия в частотах выделения микроорганизмов при пародонтите разной степени тяжести были статистически значимы ( $\chi^2=22,6$ ,  $df=10$ ,  $p=0,04$ ).

При качественном анализе РПГ лиц с интактным пародонтом были выявлены правильные периодичность и форма волн, крутая анакрота, острая вершина, хорошо выраженная дикротическая волна, расположенная в средней трети катакроты. Подобная морфология реограмм свидетельствует о быстром и ритмичном кровоснабжении тканей пародонта, как и других периферических отделов организма. Количественные показатели РПГ также свидетельствовали об отсутствии патологических изменений. Основные показатели РПГ на верхней челюсти соответствовали следующим значениям:  $T=0,184 \pm 0,011$  сек;  $\alpha=0,138 \pm 0,012$  сек;  $ИЭ=73,8 \pm 3,5\%$ ;  $ИПС=79,8 \pm 2,2\%$ ;  $ПТС=14,1 \pm 0,56\%$ ;  $РИ=0,05 \pm 0,039$  Ом. На нижней челюсти –  $0,191 \pm 0,012$  сек;  $0,140 \pm 0,007$  сек;  $74,0 \pm 3,5\%$ ;  $80,2 \pm 2,3\%$ ;  $14,3 \pm 0,52\%$ ;  $0,053 \pm 0,054$  Ом соответственно. Коэффициент достоверности варьировал. Полученные данные считались исходными. Статистически значимая разница между показателями РПГ на верхней и нижней челюсти при интактном пародонте отсутствовала ( $\chi^2=10,7$ ,  $df=5$ ,  $p=0,06$ ).

При морфологическом исследовании покровная ткань представлена многослойным плоским эпителием с незначительными призна-

ками ороговения. Зона шиповидных клеток – с чёткими контурами и хорошо выраженными межклеточными связями. Крупные клетки базального слоя имеют интенсивно окрашенные ядра и хорошо дифференцируются от вышележащих слоёв эпителия. Собственная пластинка слизистой оболочки состоит из рыхлой волокнистой соединительной ткани с умеренным содержанием фибробластов, макрофагов, тучных и плазматических клеток. Капилляры имеют тонкие стенки с крупными округлыми эндотелиоцитами. Перикапиллярная ткань содержит рыхло расположенные соединительнотканые волокна. При интерпретации морфологическая картина без признаков патологии соответствовала стоматологическому статусу и клиническому диагнозу.

С развитием воспалительного процесса отмечаются значительные изменения во всех отделах системы микроциркуляции пародонта. При пародонтите средней степени изменения морфологической структуры РПГ выражается снижением амплитуды волн, более высоким подъёмом восходящей части, слабоконтурным дикротическим зубцом. Вершина реограммы снижена и имеет куполообразную форму. Дикротическая волна уплотняется, имеет пологий спад. При тяжёлом пародонтите определяются низкоамплитудные, часто нерегулярные комплексы с плохо определяемыми элементами реографической волны. Подобный тип реограмм характеризует склеротическое поражение сосудов, утративших эластические свойства. При количественном анализе РПГ отмечено, что с развитием воспалительного процесса происходит уменьшение времени распространения пульсовой волны на РПГ обеих челюстей. Анакротическая фаза, ИПС и ПТС увеличиваются, а ИЭ и РИ соответственно снижаются. При пародонтите средней степени основные показатели РПГ на верхней челюсти представлены следующими значениями:  $T=0,097\pm 0,008$  сек;  $\alpha=0,182\pm 0,012$  сек;  $ИЭ=66,3\pm 2,3\%$ ;  $ИПС=90,3\pm 5,1\%$ ;  $ПТС=18,6\pm 0,79\%$ ;  $РИ=0,027\pm 0,012$  Ом. На нижней челюсти данные показатели соответственно равны:  $0,107\pm 0,011$  сек;  $0,184\pm 0,011$  сек;  $65,8\pm 3,2\%$ ;  $91,6\pm 5,6\%$ ;  $19,8\pm 0,79\%$ ;  $0,026\pm 0,014$  Ом. Статистически значимая разница между показателями РПГ на верхней и нижней челюсти при пародонтите средней степени также отсутствовала ( $\chi^2=8,7$ ,  $df=5$ ,  $p=0,07$ ) Максимальная отрицательная динами-

ка прослеживается при тяжёлом пародонтите. При этом отмечаются различия с РПГ для интактного пародонта, которые были статистически значимы ( $\chi^2=13,4$ ,  $df=5$ ,  $p=0,04$ ). Значения основных показателей РПГ на верхней челюсти соответствуют следующим значениям:  $T=0,079\pm 0,006$  сек;  $\alpha=0,207\pm 0,009$  сек;  $ИЭ=61,2\pm 2,3\%$ ;  $ИПС=101,2\pm 4,6\%$ ;  $ПТС=25,4\pm 1,18\%$ ;  $РИ=0,020\pm 0,0016$  Ом. На нижней челюсти соответственно:  $0,077\pm 0,006$  сек;  $0,209\pm 0,008$  сек;  $60,9\pm 2,5\%$ ;  $104,6\pm 4,3\%$ ;  $26,4\pm 1,19\%$ ;  $0,020\pm 0,024$  Ом.

При морфологическом исследовании биоптатов отмечено, что при пародонтите средней степени отмечается отёк и усиленная пролиферация клеток шиповатого слоя с образованием глубоких акантотических выростов. Структура эпителия разрыхлена, поверхностные слои фрагментируются или подвержены деструкции. Коллагеновые волокна набухшие, сливаются в мощные пучки, местами фрагментируются. В местах ремиссии воспаления образуется грубая рубцовая ткань. При тяжёлом пародонтите патологические изменения в тканях ещё более выражены. Десквамация эпителия сочетается с резко выраженным акантозом. В области микроабсцессов встречается некроз эпителия. В местах ремиссии воспалительного процесса отмечается слияние грубых, набухших соединительнотканых волокон в обширные поля склероза. Стенки капилляров утолщены, просветы их сужены и окружены периваскулярными инфильтратами.

## Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при интактном пародонте в содержимом десневой борозды доминируют представители стабилизирующей резидентной микрофлоры. Незначительные концентрации пародонтопатогенов у части обследованных свидетельствуют о большой вероятности развития воспаления. Отсутствие клинических проявлений воспаления указывает на выраженные компенсаторные механизмы защиты у данной группы пациентов. С развитием воспаления в пародонте изменяется структура его бактериального сообщества. Количество и концентрация представителей стабилизирующей резидентной микрофлоры снижаются, а данные показатели пародонтопатогенных видов увеличиваются. Это свидетельствует о том, что для инициации вос-

палительного процесса важен не только негативный потенциал пародонтопатогена, но и количество, и концентрация стабилизирующей микрофлоры. Воспалительный процесс пародонта сопровождается нарушением сложившегося баланса между организмом и его микрофлорой, а также нарушением равновесия внутри микробной ассоциации. При дли-

тельно протекающем воспалительном процессе усиливаются факторы агрессии анаэробной микрофлоры, и механизмы компенсации не способны поддерживать баланс в тканях. Это приводит к комплексу необратимых реакций в системе микроциркуляции пародонта и развитию деструктивных изменений в тканевых структурах. ●

## Литература / References:

1. Dmitrieva LA, Periodontology: a national guideline. M.: GEOTAR – Media, 2013: 712 p. Russian (Дмитриева Л.А. Пародонтология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013: 712 с.)
2. Tsepov LM, Tsepova EL, Tsepov AL Periodontium: localized focus of serious problems (a literature review). Periodontology. 2014; V.19, №3: 3-6. Russian (Цепов Л.М., Цепова Е.Л., Цепов А.Л. Пародонтит: локализованный очаг серьезных проблем (обзор литературы). Пародонтология. 2014; Т.19, №3: 3-6.)
3. Sakanaka A, Takeuchi H, Kuboniwa M, Amano A. Dual lifestyle of Porphyromonas gingivalis in biofilms and gingival cells. Journal of Microbial Pathogenesis. 2016; (94): 42-47.
4. Brofman ID, Sozaeva AYu, Zhanimova LR, Kardanova KH, Aliev AU. Alterations of oral microbiota in patients with periodontitis of distinct severity. Advances in Modern Science. 2016; V.10, №11: 39-42. Russian (Брофман И.Д., Созаева А.Ю., Жанимова Л.Р., Карданова К.Х., Алиев А.У. Изменение микрофлоры полости рта при пародонтите различной степени тяжести. Успехи современной науки. 2016; Т.10, №11: 39-42.)
5. Costalonga M, Herzberg MC The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. Immunology Letters. 2014; (162): 22-38.
6. Vielkind P, Jentsch H, Eschrich K, Rodloff AC, Stingl C-S. Prevalence of *Actinomyces spp.* in patient with chronic periodontitis. International Journal of Medical Microbiology. 2015; (305): 682-688.
7. Vasilieva LI, Zheltukhina NYu, Novgorodskiy SV. Etiology, pathogenesis, and contemporary treatment of periodontitis. Valeology. 2012; №3: 12-18. Russian (Васильева Л.И., Желтухина Н.Ю., Новгородский С.В. Этиология, патогенез и современные методы лечения воспалительных заболеваний пародонта. Валеология. 2012; №3: 12-18.)
8. Abdрахманов АК, Мамаева EV, Yakovleva GYu, Il'inskaja ON. Microbiology of juvenile periodontitis. Pediatric Dentistry and Prevention. 2016; V.15, №3 (58): 4-9. Russian (Абдрахманов А.К., Мамаева Е.В., Яковлева Г.Ю., Ильинская О.Н. Ювенильный пародонтит - видовая принадлежность выделенных микроорганизмов. Стоматология детского возраста и профилактика. 2016; Т.15, №3 (58): 4-9.)
9. Galieva DT, Atrushkevich VG, Tsarev VN, Mitronin AA. The endodontic periodontic affections: actual issues. Treatment and Prevention. 2015; №4 (16): 85-91. Russian (Галиева Д.Т., Атрушкевич В.Г., Царев В.Н., Митронин А.А. Эндодонто-пародонтальные поражения: актуальные вопросы. Лечение и профилактика. 2015; №4 (16): 85-91.)
10. Czochrowska EM, Rosa M. The orthodontic/periodontal interface. Seminars in Orthodontics. 2015; (21): 3-14.

## Сведения об авторах

**Каличкина Елена Леонидовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапевтической и ортопедической стоматологии с курсом материаловедения ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Кемерово, Россия

### Author

**Dr. Elena L. Kalichkina, MD, PhD, Associate Professor, Department of Therapeutic and Orthopedic Dentistry, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation**

### Корреспонденцию адресовать:

Каличкина Елена Леонидовна,  
650056, Кемерово, ул. Ворошилова 22а,  
E-mail: kalichkina69@mail.ru

### Corresponding author:

**Dr. Elena L. Kalichkina,**  
Voroshilova Street 22a, Kemerovo, 650056,  
Russian Federation  
E-mail: kalichkina69@mail.ru

**Acknowledgements:** There was no funding for this project.

Статья поступила: 29.01.17г.

Принята в печать: 22.02.17г.